

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Ústav pro životního prostředí**

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



**Jana Vítová**

**Možnosti ochrany ex situ vzácných a ohrožených druhů rostlin**

***Possibilities of ex situ protection of rare and endangered plant species***

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Zuzana Münzbergová, Ph.D.

Praha, 2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila k tomu informační zdroje a literaturu, jejichž seznam je přiložen k bakalářské práci. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Tištěná verze práce je shodná s elektronickou verzí vloženou do SIS. Souhlasím s tím, aby práce byla zpřístupněna pro studijní a výzkumné účely.

V Praze dne:

Podpis:

## **Poděkování:**

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí této bakalářské práce doc. RNDr. Zuzaně Münzbergové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a čas věnovaný konzultacím. Dále pak projektu LIFE for Minuartia-Život pro kuřičku (LIFE15 NAT/CZ/000818), který je realizován s finančním příspěvkem Evropské unie, programem Life a s finančním příspěvkem Ministerstva životního prostředí ČR v rámci, kterého byla práce zpracována. Poděkování patří také mé rodině, za veškerou jejich podporu.

## **Abstrakt**

V bakalářské práci jsou přiblíženy možnosti, význam a možné problémy ex situ ochrany pro budoucí zachování biodiverzity rostlin na Zemi. V úvodní části práce jsou přiblíženy jednotlivé procesy a programy ex situ ochrany. Zároveň jsou poskytnuty informace o mezinárodní spolupráci v oblasti semenných bank a botanických zahrad, které svou činností a vzájemnou spoluprací vytváří záchranné programy pro zajištění co nejvíce vzorků rostlinného materiálu pro případné budoucí použití. V práci jsou zmiňovány i mezinárodní databáze rostlin, jež širší veřejnosti poskytují přesné a podrobné informace o uchovávaném materiálu vzácných a ohrožených druhů rostlin. Dále jsou v práci zmapovány v současné době známé problémy ex situ ochrany s jejich dopady na sběrový a uskladněný materiál.

## **Abstract**

The aim of the bachelor's thesis is to present the possibilities, significance and possible problems of ex-situ protection for the future conservation of biodiversity of plants on Earth. In the introductory part of the thesis, the individual processes and programs of ex situ protection are described, with the help of literature search. At the same time, information on international cooperation in the field of seed banks and botanical gardens is presented, which, through their activities and mutual cooperation, create rescue programs to secure as many samples of plant material for possible future use. The work also mentions international plant databases, which provide the accurate and detailed information about the preserved material of rare and endangered plant species for the public. Further in the thesis, the currently known problems of ex situ protection with their impacts on the collected and stored material are mapped.

## **Klíčová slova**

Ochrana ex situ, ohrožené rostliny, Ministerstvo životního prostředí, databáze, dormance semen, inbreeding, outbreední deprese, kultivace, semenné banky, botanické zahrady, tkáňové kultury, in vitro, genetický drift, mutace, hybridizace, ochrana volně žijících živočichů, ohrožené druhy

## **Keywords**

Ex situ conservation, threatened plants, Ministry of the Environment, database, seed dormancy, inbreeding, outbreed depression, cultivation, seed bank, botanical gardens, tissue cultures, in vitro, genetic drift, mutation, hybridization, wildlife conservation, endangered species, threatened species

## **Obsah**

<b>Úvod</b>	<b>6</b>
<b>1 Co je to ex situ ochrana?</b>	<b>8</b>
<b>2 Druhy ex situ ochrany</b>	<b>9</b>
2.1 Semenné banky .....	9
2.1.1 Semenné banky v České republice .....	12
2.2 Botanické zahrady .....	13
2.2.1 Botanické zahrady v České republice .....	15
2.3 Tkáňové kultury .....	17
2.3.1 In vitro kultura v České republice .....	20
2.4 Zahradní kultivace .....	20
<b>3 Využití materiálu z ex situ ochrany</b>	<b>22</b>
<b>4 Problémy ex situ ochrany</b>	<b>24</b>
4.1 Problémy zdrojových populací .....	24
4.2 Problémy při sběru a dokumentaci .....	25
4.2.1 Genetický drift .....	25
4.3 Problémy vzniklé během kultivace .....	27
4.3.1 Inbreeding .....	28
4.3.2 Hybridizace .....	29
4.3.2.1 Vnitrodruhová hybridizace .....	29
4.3.2.2 Mezidruhová hybridizace .....	29
4.3.3 Adaptace ke kultivaci .....	31
4.3.4 Akumulace mutací .....	33
4.3.5 Kontaminace in vitro kultury .....	34
4.4 Problémy při vrácení rostlin zpět do přírody .....	34
<b>Závěr</b>	<b>35</b>
<b>Seznam použité literatury</b>	<b>37</b>

## Úvod

Rostliny tvoří důležitou část lidského bytí. Život na Zemi, jak ho známe, by bez nich přestal existovat (Raven, 2004). Jejich nesporná důležitost je převážně ve schopnosti absorbovat sluneční energii a vytvářet biomasu, která tvoří základ biosféry. Jsou nedílnou součástí řady ekologických procesů, jako je regulace klimatu, absorpce oxidu uhličitého, úrodnost půdy a čištění vody a vzduchu (Sukhdev et al., 2010). Vytváří základní článek v potravinovém řetězci, slouží k výrobě léků, či jako stavební materiál nebo palivo. Vysoká biodiverzita je tak předpokladem pro fungující ekosystém a jeho stabilitu.

Znečišťováním přírody, změnami rotační osy Země a globálním oteplováním se však diverzita rostlin ztrácí, a to 100x až 1000x rychleji než dříve (Li Dez-hu a Pritchard, 2009). Je odhadováno, že 20 % veškeré diverzity rostlin je ohroženo vyhynutím (Brummitt et al., 2015). Za riziko vyhynutí je z velké části zodpovědný antropogenní vliv, zahrnující degradaci přirozeného prostředí, rozšíření nepůvodních druhů zavlečených člověkem, nadměrné využívání přírodních zdrojů a změny klimatu (Murphy a Romanuk, 2014). Mezi ně patří zvýšení teploty, desertifikace, zvýšení hladiny moří, změny srážek a navýšení počtu a síly extrémních povětrnostních jevů. To má dále za následek například změny ve vegetačním období rostlin a ztrátu opylovačů (Hawkins et al., 2008). Dle odhadu je antropogenním vlivům vystaveno 75 % zemského povrchu (Venter et al., 2016).

Ke dni 9. 4. 2020 podle červeného seznamu IUCN 2020 je ve světě 16 026 ohrožených druhů cévnatých rostlin, z toho 3 280 druhů je ohroženo kriticky. Seznam obsahuje hodnocení pouze 10 % popsanych běžných druhů rostlin. Ve skutečnosti je tak počet ohrožených druhů 10x i více větší, neboť většina vzácných druhů není evidována (web 1). V České republice patří mezi obecně ohrožené druhy 52 % cévnatých rostlin, 28 % mechorostů a 37 % lišejníků. U cévnatých rostlin se jedná celkem o 1184 ohrožených druhů, z toho skoro 300 druhů je klasifikováno jako kriticky ohrožených (Grulich a Chobot, 2017).

Z údajů je patrné, že i u nás je mnoho druhů, které je potřeba chránit. Nejlepší způsob pro ohrožené druhy je ochrana in situ, tedy na jejich přirozeném stanovišti (Guerrant et al., 2004). Avšak právě vzhledem k narůstající degradaci přirozených stanovišť po celém světě se začíná čím dál tím víc rozšiřovat ochrana ohrožených druhů rostlin mimo jejich přirozené stanoviště, tedy ex situ ochrana.

Ex situ ochrana vzácných a ohrožených druhů, která si začíná v současné době ve světě, ale i u nás získávat pozornost, je předmětem této bakalářské práce, jež má za cíl zmapovat různé

přístupy a možnosti ex situ ochrany, zachytit jejich výhody a nevýhody, přiblížit jejich dostupnost, rozšíření a význam.

## 1 Co je to ex situ ochrana?

Jak již je v úvodu řečeno, prioritním cílem ochrany biodiverzity je zachovat populaci na jejím přirozeném stanovišti (ochrana in situ), kde mohou druhy interagovat s řadou dalších organismů a tím může dál pokračovat přirozený proces evoluce (Maunder et al., 2004). Pakliže nelze v populaci zajistit vývoj na jejím původním stanovišti nebo je z důvodu narušení přirozených stanovišť, změnou klimatu nebo změnou krajiny ochrana in situ nemožná, ukazuje se využití ex situ ochrany, tj. ochrany druhu mimo jeho přirozené stanoviště, jako jediné dosud dostupné řešení (Hoban a Schlarbaum, 2014). Ex situ ochrana se používá jako důležité doplnění ochrany in situ a jejím hlavním cílem je zabránění vyhynutí druhů populace rostlin (Maunder et al., 2004) a její zapojení do plánů obnovy ohrožených druhů a stanovišť (Müller et al., 2017).

Ex situ ochrana spočívá v odebrání části populace z přirozeného a ohroženého stanoviště a umístění populace na nové místo, kde za pomoci péče člověka dochází k procesu množení, což znamená pěstování rostlin v kulturách, nebo na stanovištích v přírodě. Určitou výjimku z tohoto postupu tvoří semenné banky.

V procesech množení v ex situ ochraně by měl být kladen důraz na zachování maximální možné genetické diverzity druhu, včetně jeho adaptací k původním podmínkám, aby v budoucnu, při zlepšení podmínek, bylo možné druh navrátit na jeho přirozené stanoviště (Pánková et al., 2018). Pro navrácení rostlin zpět na jejich přirozená stanoviště jsou sbírky ex situ klíčovou možností, jak zachovat biologickou diverzitu rostlin (Hoban a Schlarbaum, 2014).



## 2 Druhy ex situ ochrany

Ex situ ochrana se dá provádět mnoha způsoby, mezi standardní způsoby patří semenné banky, tkáňové kultury nebo pěstování druhů v botanických zahradách. Samotné rostliny mohou být pěstovány buď jako živé sbírky nebo jako kultury in vitro. Části rostlin (propaguláty) mohou být uloženy jako semena nebo jako tkáň (Maunder et al., 2004; MŽP, 2005, MŽP, 2016; Pánková et al. 2018).

### 2.1 Semenné banky

Ex situ uložení semen je ekonomicky výhodný způsob, jak druh nejsnáze uchovat a zachovat jeho nenarušený genofond, který může být v budoucnosti perspektivně využíván k obnovení populace v případě vymizení druhů. Uchovaná semena lze v případě potřeby v budoucnu znovu vysadit do přírody.

Semena jako nejvhodnější část rostliny pro uložení se běžně uchovávají při nízké teplotě a vlhkosti. Tímto způsobem se zejména uchovávají tzv. ortodoxní semena planě rostoucích druhů a plodin. Ortodoxní semena jsou druhem semen, která dokážou projít fází vyschnutí bez ztráty klíčivosti, nebo narušení jejich struktury. Méně finančně náročná je konzervace ultra suchých ortodoxních semen, kdy jsou semena vysušená na menší obsah vody, a to méně než 3% vlhkosti (při běžném vysušení je to 3–7% vlhkosti). Konzervace ultra suchých ortodoxních semen funguje tak, že vysušená semena se nemusejí uchovávat při nízkých teplotách (Dotlačil, 1998; Maunder et al., 2004; web4).

Semena některých druhů rostlin však nesnesou nízké teploty a vysušení. Jedná se většinou o tropické nebo subtropické rostliny, které mají tzv. rekalcitrantní semena, která se nedají uchovávat delší dobu než jen několik týdnů či měsíců, a vzhledem k tomu, že mají velmi vysoký obsah vody, při vysušení ztrácí svou klíčivost. Pro taková semena se pak využívá spíše konzervace in vitro, při které se celé rostliny, jejich části nebo tkáň skladují v laboratořích v umělých podmínkách pod dohledem. Skladují se za určitých teplot a světelných podmínek tak, aby byl zajištěn pomalý růst jejich tkání. Takováto kultivace však také není dlouhodobá, je u ní předpokládána maximální doba 1–4 roky (Dotlačil, 1998).

Nejúčinnější konzervace na dlouhou dobu je kryokonzervace, která se využívá pro semena, ale také pro tkáň a pyl. V rámci této metody jsou části rostlin zmrazeny v tekutém dusíku při teplotě -196 °C. Při takovéto teplotě se v podstatě zastaví procesy v buňkách, a proto lze takto

části rostlin skladovat déle. Převod rostlinných částí do kapalné fáze a z ní zpět je však velice obtížný, proto je tato metoda poněkud finančně náročná. Tento druh konzervace se dá použít i pro rekalcitrantní semena, u kterých se používá jen malá část semen, tzv. embryo (Maunder et al., 2004; Dotlačil, 1998; web4).

V ochraně vzácných a ohrožených druhů patří semenné banky mezi nejdůležitější a nejúčinnější metody, jež se začínají využívat čím dál častěji, a to v první řadě díky velkému rozsahu uchované diverzity a snadné aplikaci, a v druhé řadě díky ochraně rostlin ve formě semen, jež jsou základem pro rozmnožování. Lehká dostupnost semen zajišťuje vysokou kvalitu genofondu s řadou rozsáhlé diverzity druhů. Výhodou je poměrně snadný sběr z populace jednotlivců, snadná manipulace se získaným materiálem a uložení na relativně malém prostoru. Počet míst, kde se semena uchovávají, poslední dobou významně roste (Müller et al., 2017).

S pozitivním zvyšováním počtu míst, která splňují podmínky pro kultivaci v semenných bankách, stoupá naděje, že rostlinná říše nezanikne a že lidská populace vytvoří takové podmínky, které by obnovily přirozená stanoviště *in situ*, kam budou moci být živé sbírky a osivové materiály navraceny. Do té doby může být právě osivový materiál jednou z účinných forem ochrany genetické diverzity planě rostoucích rostlin (O'Donnell et al., 2017). I když se ochrana v semenných bankách obvykle využívá spíše pro plodiny, poslední dobou stále více institucí buduje semenné banky pro ochranu planě rostoucích rostlin (O'Donnell et al., 2017).

Pro zvýšenou ochrannářskou hodnotu sbírky musí semenné banky dodržovat určité podmínky. Na základě požadovaných podmínek uskladnění byly zkonstruované standardy pro ochranu semen programem Kew's Millennium Seed Bank Partnership (MSBP), jenž je největším programem na světě, který se zabývá ochranou rostlin *ex situ*. Tento program je řízený Královskou botanickou zahradou v Kew ve Velké Británii (Web 14). Semenný materiál sebraný a uchovávaný podle těchto standardů lze poté využít pro znovuvysazení nebo pro obnovu původních stanovišť *in situ* (O'Donnell et al., 2017). Jedním z nejdůležitějších standardů je povinnost duplikování sbírky semen v jiném zařízení, která jsou geograficky oddělená. Opatření je zavedeno z důvodu možného úhynu nebo poškození skladované sbírky. Tímto standardem je minimalizována ztráta ohrožených druhů (O'Donnell et al., 2017).

V *ex situ* sbírkách je uloženo na 63 % ohrožených evropských druhů a téměř 500 taxonů, které jsou již klasifikovány jako regionálně nebo globálně vyhynulé ve volné přírodě (O'Donnell et al., 2017). Podle průzkumů a informací z databází Botanic Gardens Conservation International (BGCI) institucí, které sbírají a uchovávají semena planě rostoucích druhů, najdeme po celém

světe 370 v 74 různých zemích. V těchto institucích je uloženo 56 987 taxonů, z nichž více než 9 000 taxonů jsou ty, kterým hrozí vyhynutí. Většina BGCI institucí jsou botanické zahrady a arboreta, další pak tvoří samostatné semenné banky a výzkumná zařízení univerzit (O'Donnell et al., 2017). Pro oblast ohrožených a vzácných taxonů je z hlediska lokace důležitá sběrná síť, která by zajišťovala uchování semen v zemích svého původu z důvodu snadné dostupnosti obnovení a opětovného vysazení zpět do přírody (Abeli et al., 2020). Vytvoření sběrné sítě však v mnoha zemích není možné. Například hlavní oblasti s vysokou diverzitou druhů rostlin mají omezenou aktivitu a nedostatek kapacit pro uložení v semenných bankách. Mezi tyto oblasti patří Jižní Amerika, střední Afrika a jihovýchodní Asie (O'Donnell et al., 2017). Nedostatky mohou být způsobeny dřívějším míněním o tom, že ve vlhkých oblastech je vysoké procento druhů s rekalcitrantním semenem, které nedokážou přežít sušení a mrazení během ex situ uchování. Ale dnes se ukazuje, že u více než 80 % druhů semen rostlin by mohla vzniknout tolerance vysychání (Wyse a Dickie, 2017).

Síť botanických zahrad Botanic Gardens Conservation International (BGCI) a její volně přístupné databáze GardenSearch, PlantSearch, ThreatSearch a GlobalTreeSearch v oblasti semenných bank přináší společně užitečné informace pro uchování rostlin, které mohou například pomoci institucím najít nedostatky v této oblasti (O'Donnell et al., 2017).

- Databáze BGCI GardenSearch nám ukazuje rozsah a geografické rozmištnění botanických zahrad, které se podílejí na semenném bankovníctví (O'Donnell et al., 2017).
- Globální databáze BGCI PlantSearch obsahuje sbírky s informacemi o živých rostlinách, jejich semenech a tkáních. Určuje, kolik druhů ve sbírkách semenných bank je, a poskytuje aktuální informace. Jedná se o informačně nejobsáhlejší seznam diverzity planě rostoucích rostlin, konzervovaných ve sbírkách ex situ (O'Donnell et al., 2017), a také prvotní nástroj pro monitoring pokroku cíle 8 Globální strategie pro ochranu rostlin (Sharrock et al., 2014), ve kterém je uvedeno, že nejméně 75 % ohrožených druhů musí být obsaženo ve sbírkách ex situ, a to nejlépe v zemi svého původu. Z toho nejméně 20 % by mělo být poskytnuto na program obnovy do roku 2020 (Smith, 2016).
- ThreatSearch databáze posuzuje stav ochrany druhů. S touto aktivitou je spojeno i publikování červeného seznamu hodnocení ochrany rostlinných druhů, včetně zveřejnění dalších seznamů, jako např. červeného seznamu ohrožených druhů IUCN, národních červených seznamů a jiných zdrojů.

Databáze obsahuje přes 240 000 záznamů, které zhodnocující ohrožení, jež reprezentuje přes 150 000 taxonů (Sharrock a Rivers, 2017). Databáze byla vytvořena jako jediné kontaktní místo k vyhledávání posouzení stavu ochrany rostlinných taxonů. Z údajů se zjišťuje stav ohrožení druhů a kolik druhů v semenných bankách bylo hodnoceno z pohledu jejich ohrožení (O'Donnell et al., 2017).

- GlobalTreeSearch poskytuje informace o druzích dřevin uchovávaných ve sbírkách v semenných bankách a ukazuje podíl endemických dřevin v těchto sbírkách jednotlivých zemí na globální a národní úrovni. Najdeme v ní přes 60 000 druhů dřevin (O'Donnell et al., 2017).

Vezmeme-li z výše jmenovaných databází například databázi PlantSearch, lze z volně přístupných dat vyčíst podrobné informace, ve kterých je uváděno například, kolik je v semenných bankách v PlanetSearch obsaženo odlišných rostlinných taxonů. Od roku 2015 se tento počet zvýšil o zhruba 18 000. Nezvýšil se jen počet druhů, ale také počet institucí, které přispívají do systému PlantSearch informacemi o sběru semen. Z 29 institucí v roce 2015 se počet v roce 2017 navýšil na 65 institucí (O'Donnell et al., 2017). Padesát procent druhů (28 735) má ve sbírkách semenných bank zhodnocení jejich ohrožení na úrovni celosvětové, či na úrovni národní/regionální. Vyhynutím je ohroženo zhruba 10 000 druhů stromů, zvláště kvůli degradaci stanovišť a neudržitelnému využívání druhů dřevin. Druhů dřevin najdeme ve sbírkách ex situ semenných bank podle databází GlobalTreeSearch společně s PlantSearch 6 881. Ohroženo globálně nebo národně je méně než 20 % biodiverzity (O'Donnell et al., 2017).

Tento rok také nově vznikl web IUCN Seed Conservation Specialist Group, který má za úkol sdílet znalosti o ochraně semen a také ochranu podporovat. Zřízen je skupinou odborníků z 25 zemí, která byla založena v roce 2017. Skupina spolupracuje s komisí pro přežití druhů IUCN a je podporována Botanic Gardens Conservation International (BGCI) (web12).

### **2.1.1 Semenné banky v České republice**

U České republiky tzv. centrální „sklad“ semen najdeme v Genové bance Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni, kde jsou uložena semena hlavně zemědělsky významných druhů rostlin. Skladují se zde ale i planě rostoucí rostliny (Web15). Například jsou zde v základní sbírce uloženy rostliny z Krkonošského národního parku. K roku 2010 čítala sbírka 130 vzorků semen 97 taxonů (Zahradníková & Harčariková, 2010), k roku 2016 to bylo 241 vzorků semen ze 122 taxonů (Harčariková, 2017).

Semena z Krkonoš mají však i svou duplicitní sbírku ve své semenné bance Správy KRNAP ve Vrchlabí, kde k roku 2010 bylo uloženo 66 vzorků semen 56 rostlinných druhů (Zahradníková & Harčariková, 2010), v roce 2016 to bylo už 182 vzorků semen 98 druhů, a tato čísla stále narůstají (Harčariková, 2017). Uložená semena pochází z vybraných cévnatých rostlin Krkonoš, patřících mezi kriticky ohrožené druhy. Kromě uložení semen se zde rostliny i pěstují a množí, a to i v in vitro podmínkách (Web16). Již v roce 1995 zde byly sebrány první vzorky semen v rámci grantu GA ČR “Sběr, shromažďování a uchování planých druhů a krajových forem rostlin ČR”. Bylo to celkem 337 vzorků, z nichž 33 patřilo mezi chráněné druhy. Bohužel u těchto vzorků nebyla kompletní dokumentace, a proto v roce 2000 vznikl nový projekt pro systematický sběr a evidenci semen, který má platnost v nezměněné formě od roku 2002.

KRNAP je jediný národní park, který má v České republice svou genetickou banku. Ostatní chráněná území České republiky své ohrožené planě rostoucí rostliny ukládají v olomouckém vlastivědném muzeu v bance semen ohrožených druhů rostlin, ve kterém najdeme i u nás zcela ojedinělou expozici ohrožených a vzácných druhů rostlin, která je trvale přístupná veřejnosti (Web17).

## **2.2 Botanické zahrady**

Samotné rostliny se uchovávají v zahradnických kulturách, jako jsou botanické zahrady a arboreta. Někdy se využívá i pěstování v přírodě, na blízkých stanovištích, kde se vytvoří náhradní populace. Zahradnické kultury jsou určeny hlavně pro rostliny, které si neumějí vytvořit životaschopná semena a pro druhy s rekalcitrantními semeny. Uchovávání v zahradách a na veřejné zeleni, tzv. ochrana in garden, je jednou z hlavních funkcí botanických zahrad. Primárně je určena pro okrasné či zahradnický zajímavé ohrožené druhy rostlin (Dotlačil, 1998; Web5).

Dříve botanické zahrady sloužily jako úložiště pro akademický výzkum, ale v posledních letech se začaly využívat k potlačení poklesu druhové diverzity způsobené člověkem (Maunder et al., 2004). Botanické zahrady jsou tedy jedny z klíčových institucí podporující ex situ ochranu divokých druhů, a to včetně arboret a jiných výzkumných zařízení, mající ve svých sbírkách více než třetinu druhů rostlin (O'Donnell et al., 2017). Ačkoliv je převážná část rostlin v botanických zahradách běžnými okrasnými rostlinami, pěstování vzácných a ohrožených druhů za účelem ochrany hraje v činnosti botanických zahrad stále důležitější roli (Mounce et al., 2017).

Botanické zahrady mají unikátní možnosti pro zachování diverzity rostlin v taxonomickém spektru. Za pomoci integrované ochranné akce pro zachování stability se snaží předejít nebezpečí vyhynutí vzácných druhů (Mounce et al., 2017). Botanické zahrady se jeví jako místa s vhodnými podmínkami pro ochranu ex situ, což se uplatňuje při ochraně vzácných druhů rostlin (Ensslin et al., 2011) a při zvětšování populací rostlin množením ex situ (Mounce et al., 2017).

Po celém světě je zřízeno okolo 1600 botanických zahrad, které vlastní významné sbírky rostlin (MŽP, 2005, MŽP 2016). V roce 2000 bylo v botanických zahradách uloženo přes 80 000 druhů rostlin (Wyse Jackson a Sutherland, 2000). O několik let později celosvětová síť botanických zahrad obsahovala dle publikace (Mounce et al., 2017) 105 634 rostlinných druhů, což zahrnuje 30 % druhové diverzity rostlinných druhů, 59 % rodů a 93 % všech čeledí cévnatých rostlin. Obsahují tak největší sbírku ex situ rostlinné biodiverzity na světě a mají při zachování této biodiverzity hlavní, a tedy klíčovou roli (Mounce et al., 2017).

Uznání důležité role botanických zahrad v ochraně rostlin nastalo v roce 1989, kdy byla publikována první konzervační strategie v botanických zahradách (Heywood, 2011). Rozmach tohoto konceptu nastal v 90. letech minulého století (Heywood, 2011). V roce 1998 byla započata mezinárodní konzultace o vylepšení strategie s respektováním Úmluvy o biologické rozmanitosti, kterou spustila organizace Botanic Gardens Conservation International (BGCI) a sdružení 800 botanických zahrad z více než sto zemí. Později byl přijat program Globální strategie pro ochranu rostlin (GSPC), který se snaží zabránit ztrátě diverzity rostlin a zajistit, aby v budoucnu lidská činnost podporovala tuto diverzitu (Wyse Jackson a Kennedy, 2009).

Podnět pro vznik programu Globální strategie byl dán v srpnu roku 1999 na XVI. Mezinárodním botanickém kongresu v Saint Louis v USA, kde předseda zasedání Peter H. Raven nastínil narůstající krizi možné ztráty druhů rostlin po celém světě a vyzval k řešení tohoto problému. Kongres v důsledku přijal usnesení, ve kterém je vyzýváno k uznání ochrany rostlin za význačnou globální prioritu. Na to zareagovala Botanic Gardens Conservation International (BGCI) a svolala v dubnu 2000 v Las Palmas de Gran Canaria skupinu, kde vznikl významný orientační bod „Prohlášení z Gran Canaria“ (Blackmore, et al., 2001). Skupina podala podnět k vytvoření globální strategie pro ochranu rostlin a programu pro její realizaci v rámci Úmluvy OSN o biologické rozmanitosti (CBD). Návrh byl následně předložen na zasedání konference smluvních stran Úmluvy o biologické rozmanitosti v Nairobi v květnu 2000 a ta souhlasila, že návrh zváží na příštím zasedání v roce 2002 (Wyse, 2002). OSN v tomto roce následně přijalo

Globální strategii pro ochranu rostlin, která navrhla zaměřit se na možnou ztrátu desítek tisíc ohrožených druhů rostlin (Wyse Jackson a Kennedy, 2009).

Cílem Globální strategie je zamezit pokračování současné ztráty rostlinné diverzity (Wyse Jackson a Kennedy, 2009), udržet 60 % všech ohrožených rostlinných taxonů v ex situ sbírkách a z těchto sbírek 10 % využít na program obnovy biodiverzity ve volné přírodě (Husband a Campbell, 2004). Program strategie naznačuje 16 cílů, pod které patří: porozumění a dokumentování rozmanitosti rostlin, ochrana, udržitelné využívání, podpora vzdělávání a informovanost a budování nových kapacit (Mounce et al., 2017).

Botanické zahrady se snaží splnit všechny cíle, ale jakožto hlavní instituce v programu ochrany rostlin ex situ jsou tyto instituce klíčové hlavně ve splnění cíle 8, o kterém se zmiňují u semenných bank (Smith, 2016). Dnes však víme, že přes polovinu endemicky ohrožených druhů je uchovávána mimo zemi jejich původu, což má za následek sníženou dostupnost pro ekologickou obnovu nebo obnovu druhů (Mounce et al., 2017).

Dnes činnost botanických zahrad svými podmínkami poskytuje široké spektrum ochrany ohroženým druhům rostlin a vystavování vzácných exemplářů, podporuje výzkumné činnosti a v neposlední řadě umožňuje vzdělávání a relaxaci veřejnosti. Z těchto důvodů se botanické zahrady obvykle nachází v blízkosti měst (Golding et al., 2010) a dle databáze GardenSearch ročně hostí více než 500 milionů návštěvníků (Mounce et al., 2017). Díky tomu mohou botanické zahrady poskytnout v oblasti environmentální výchovy potřebné vzdělání a informace, které širší veřejnost získává obdivem sbírek živých exemplářů, jež jsou k vidění nejen v botanických zahradách, ale i v soukromých zahradách, arboretech a školkách (Mounce et al., 2017).

### **2.2.1 Botanické zahrady v České republice**

Ochraně ohrožených druhů se věnují i zahrady v České republice, které jsou od roku 2004 součástí konsorcia botanických zahrad Evropské unie, působící od roku 1994 jako poradní orgán organizace BGCI a koordinuje aktivitu evropských botanických zahrad. V roce 2014 byly 4 botanické zahrady z České republiky z celkových 54 na území ČR (Web3) součástí sdružení více než 700 botanických zahrad ze 118 zemí, které patřily pod organizaci BGCI sídlící v Anglii v Botanické zahradě v Kew (Web5). V České republice byl při Ministerstvu životního prostředí ČR od roku 1992 do roku 2000 zřízen Poradní sbor pro botanické zahrady, který propojoval ochranu přírody s praktickými zkušenostmi a prostorovými možnostmi botanických zahrad, jež

se týkala ochrany genofondu planě rostoucích rostlin (MŽP, 2005, MŽP 2016). Jeho činnost byla posílena v roce 2005 zřízením občanského sdružení Unie botanických zahrad, která do svého spektra zahrnovala botanické zahrady, arboreta a významné botanické sbírky (Web3).

K tématu aktivních zahrad v České republice, které se ochranou ex situ vzácných druhů rostlin zabývají, se vyjádřil doktor Vlastimil Rybka, který uvedl, že do seznamu aktivních zahrad „...patří *Botanická zahrada hl. m. Prahy, Botanická zahrada Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví v. v. i., Dendrologická zahrada Průhonice, Průhonická botanická zahrada na Chotobuzi, Zoologická a botanická zahrada Plzeň, Sběrka vodních a mokřadních rostlin v Třeboni detašované pracoviště průhonického BÚ AV ČR, Botanická zahrada Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Botanická zahrada v Liberci a velmi aktivní je již zmiňovaná zahrada Správy KRNAP ve Vrchlabí, která však nepatří do unie botanických zahrad. Nejaktivnějšími zahradami jsou Botanická zahrada hl. m. Prahy, Plzeň a Třeboně.*“ (Rybka, pers. com.).

Některé botanické zahrady v ČR, které se věnují kultivaci vzácných a ohrožených druhů rostlin, se zaměřují pouze na určité druhy rostlin. Jedním z takovýchto pracovišť je právě sbírka Botanického ústavu AV ČR v Třeboni, kde se pěstují vodní a mokřadní rostliny. Sběrka vznikala od roku 1976 a slouží ke studiu a ochraně ohrožených vzácných druhů. Obsahuje především kriticky ohrožené druhy rostoucí na obnažených dnech rybníků, které se velmi rychle ztrácí díky přerušení dříve pravidelného letnění rybníků. Například se jedná o pušticčku rozprostřenou (*Lindernia procumbens*). V roce 2014 bylo v treboňské zahradě již pěstováno na 450 druhů rostlin, z toho bylo 30 druhů silně či kriticky ohroženo. Stále se rozšiřující sbírka obsahuje většinu druhů rostlin z vod a mokřadů střední Evropy. Vedle vodních rostlin disponuje všemi druhy masožravých rostlin, které se vyskytující na území ČR, a vzácnými vodními kaprad'orosty a rašeliníky. Treboňská sbírka je též na základě mezinárodní spolupráce v menším procentuálním zastoupení rozšířena o rostliny z různých oblastí světa. V bohaté sbírce lze nalézt i rostliny, které jsou ohrožené díky eutrofizaci, zákalu vody nebo velkému množství zejména herbivorních ryb. Jedná se o druhy vodních rostlin, které rostou ponořené ve vodě (MŽP, 2005; Web5; Web6).

Botanická zahrada hlavního města Prahy je další botanickou zahradou, která značně přispívá k ochraně vzácných a ohrožených druhů. V jejích sbírkách lze nalézt velké množství druhů a kultivarů rostlin, z nichž převážná část patří mezi velmi cenné druhy rostlin pocházejících z jejich původních stanovišť, a které obsahují genetický materiál důležitý pro budoucí reintrodukční programy. Její sbírky obsahují řadu ohrožených vzácných rostlin. U některých



z nich se pak podílí na záchranných programech. Uvést můžeme biotopové expozice, v nichž najdeme rostliny, které patří mezi kriticky ohrožené, například sinokvět chrpovitý (*Jurinea cyanoides*), který postupně vymírá, rdest dlouholistý (*Potamogeton praelongus*) nebo mařici pilovitou (*Cladium mariscus*) (Web5).

Zoologická a botanická zahrada města Plzeň se ochraně ohrožených druhů rostlin věnuje od roku 2010 v rámci projektu Ochrana zvláště chráněných druhů rostlin Plzeňského kraje v kultuře (ex situ). Na tomto projektu spolupracuje s odborníky Krajského úřadu Plzeňského kraje Odboru životního prostředí a z CHKO Český les. V jejich sbírce můžeme najít například kriticky ohrožený druh zimozeleně okoličnatého (*Chimaphila umbellata*), silně ohrožený druh mochny duryňské (*Potentilla thuringiaca*), kriticky ohrožený druh vrby borůvkovité (*Salix myrtilloides*) nebo kriticky ohrožený druh rosnatky prostřední (*Drosera intermedia*) (Web 13).

Mezinárodní spolupráce českých botanických zahrad s genobankami a zahradami po celém světě zkvalitňuje pěstování ohrožených rostlin i ukládání semen v našich podmínkách (Havens et al., 2006). To také vyplývá z dotazníku unie botanických zahrad ČR, ve kterém 5 z 10 dotazovaných zahrad uvedlo, že je členem BGCI. Jedna z dotazovaných zahrad se aktivně zapojuje do The International Plant Exchange Network–IPEN neboli mezinárodní výměny materiálu, dalších 6 zahrad by se zapojit chtělo. Všechny dotazované zahrady se shodly v tom, že by pěstovaly kriticky a silně ohrožené druhy pro vědu, vzdělávání nebo výstavní účely a také, že by se zapojily do konzervačního programu (Web18).

## 2.3 Tkáňové kultury

Metoda umožňující pěstování tkáňové kultury mimo mateřský organismus se v odborném světě nazývá „in vitro“ neboli „ve skle“. Hojně je využívána v biologii, např. k ochraně ohrožených druhů rostlin, kde se stává v posledních letech čím dál tím více oblíbenou, ale i v příbuzných oborech (jako např. medicína) (Kočárek et al., 2006). O samotné kultivaci in vitro existuje spousta informací, jen málo z nich se však týká ochrany ohrožených rostlin (Sarasan et al., 2006).

Každá rostlina má jiné požadavky na množení v in vitro kultuře, proto existují různé varianty složení kultivačních médií, které zajišťují, aby kultivace čerstvé tkáně odebrané z in situ byla úspěšná. Kultury se mohou udržovat buďto v kapalném médiu, které se ukázalo jako vysoce účinné pro regeneraci řady druhů, nebo v pevném médiu. U každé rostliny se také využívají

trochu jiné podmínky, které závisí na individuálních kultivačních požadavcích rostlin (Sarasan et al., 2006).

Z celé odebrané živé kultury vložené do živného média přežívá jen ta část, která se nejlépe daným podmínkám přizpůsobuje (Kočárek et al., 2006). To znamená, že se buňky vložené do baněk vyrobených z varného skla dostatečně odolného vůči teplotním rozdílům snaží v živném médiu svým chemickým složením a fyzikálními vlastnostmi co nejvíce přizpůsobit prostředí v médiu. Protože však rostlinné buňky neopouští rostlinné pletivo, přeměňují se v živném médiu na tzv. kalus, což je neorganizovaný shluk buněk vzniklých z původního pletiva. Ten lze v dané tkáňové kultuře zachovat dlouhou dobu (Lin., 2011).

V případě úspěšné kultivace se následně přizpůsobené buňky začínají dělit a vytvářet buněčnou neboli tkáňovou kulturu. Tato forma kultury existuje několik dní do vyčerpání živného média. Poté je nutné tkáňovou kulturu odebrat a přenést do jiné kultivační nádoby s čerstvým živným roztokem. Přesun buněk do roztoku se odborně nazývá pasážování buněk a je nutné ho několikrát opakovat (Dubová a Smíšková, 2016).

U rostlinných buněk naproti živočišným lze po navození vhodných podmínek změnit složení živného média a tím vyvolat zpětnou proměnu na základní zárodečnou buňku a poté diferencovat v jiný rostlinný orgán, aniž by došlo k radikální změně buňky (Lin., 2011). Přenos materiálu do kultury většinou probíhá v laboratořích, ale existuje i technika nazývaná „sběr in vitro“, kdy dochází k převedení přímo v terénu, kde se vzácné a ohrožené rostliny sbírají. Takto sebraný a iniciovaný materiál již v terénu umožňuje vytvořit kulturu ze semen s krátkou životností nebo z vegetativního materiálu, který se obtížně přepravuje z důvodu odlehlosti zdrojové rostliny (Sarasan et al., 2006).

Při využívání vhodné technologie je možné takto namnožit velké množství jedinců. Pokud ovšem dojde ke zmrazení materiálu, lze vzorky uchovat po delší dobu. Způsobem zmrazení se však dá uchovat jen určitý počet jedinců, ne celá populace (Web5).

Techniku zmrazení neboli kryokonzervace lze využít na širokou škálu vegetativního materiálu. Je používána pro rutinní ukládání germoplazmy v některých taxonech. Vhodné složení konzervačního roztoku umožňuje buňkám se dostatečně dehydratovat během zmrazování. Důležité je, aby došlo k tzv. zapouzdrění rostlinného materiálu do ochranné matrice. Mezi výhody takového zapouzdrění pak patří snadnější manipulace s citlivými tkáněmi a přímá ochrana během dehydratace a rozmrazování. Kryokonzervace je tak vědci považována za bezpečnou a nákladově efektivní metodu pro dlouhodobé termínované skladování genetických

zdrojů. Potenciální hodnota kryokonzervace jakožto nástroje pro zachování materiálu je v současné době jedinou dostupnou technikou pro bezpečné dlouhodobé skladování druhů s rekalcitrantními semeny (Sarasan et al., 2006).

Botanické zahrady a výzkumné týmy díky těmto technikám mohou propagovat velký počet ohrožených rostlin. Ochrana rostlin *in vitro* se věnuje řada botanických zahrad i výzkumných týmů. Ve světě to jsou například Laboratoř v Kings Park and Botanic Garden, Perth, Austrálie, vědci z Mount Annan Botanic Gardens v Novém Jižním Walesu v Austrálii, výzkumná skupina pro ochranu rostlin z University of Abertay ve Velké Británii, Zoo a botanická zahrada Cincinnati v Ohio v USA, Institut tropických botanických zahrad a výzkumu v Kerala v Indii, Universidad de Magallanes, Punta Arenas nebo Royal Botanic Gardens, Kew, UK (RBG Kew) (Sarasan et al., 2006).

V Royal Botanic Gardens, Kew, UK (RBG Kew) lze nalézt mikropropagační jednotku obsahující velice obsáhlou sbírku rostlin *in vitro*, zahrnujících mnoho ohrožených druhů z celého světa. Tato jednotka se podílela na množení a udržování více než 3000 rostlinných taxonů z celého světa po dobu více než 30 let. Sběrka jednotky má zástupce téměř všech hlavních taxonomických skupin rostlin včetně mechorostů, kapradin, trav, orchidejí, masožravých rostlin, sukulentů, palem, geofytů, keřů a dřevin. Většina držných taxonů je ohrožena, mnoho z nich má hodnocení IUCN, z nichž některé jsou klasifikovány jako vyhynulé ve volné přírodě. Kolekce *in vitro* v RBG Kew má dvojí účel; rozmnožování rostlin pro živé sbírky zahrady a pěstování rostlin speciálně pro jejich zachování (Sarasan et al., 2006).

*In vitro* kultivace genetických zdrojů má své výhody, mezi které patří například malé požadavky na prostor, možnost odebírat rostlinný materiál po celý rok, možnost kontrolovat zdravotní stav materiálu (Šedivá, 2002), dále také minimální potřeba výchozího materiálu, rychlost množení a v porovnání s klasickými způsoby vegetativního množení vysoký množitelský koeficient (Šedivá a Žlebčík, 2012).

Údržba sbírek *in vitro* v zachování produkce rostlin pro reintrodukcii do volné přírody je sice nákladná a vyžaduje velké množství pozornosti a kontrolu podmínek růstu, avšak pro budoucnost zachování diverzity ekosystému Země je nezbytně nutná (Sarasan et al., 2006).

### 2.3.1 In vitro kultura v České republice

V České republice například v minulosti probíhala úspěšná ochrana *ex situ* pomocí *in vitro* kultury ve Výzkumném ústavu Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví v Průhonicích, který pod vedením Ministerstva životního prostředí ČR se zabývá komplexním výzkumem krajiny na všech úrovních – na škále ekosystémů, společenstev a populací až k jednotlivým organismům. Jednalo se o kultivaci ohroženého druhu terestrické orchideje vemeníku dvoulistého (*Platanthera bifolia*) (Vejsadová, 2009). Další velmi úspěšná ochrana probíhala u vybraných druhů rodu *Pulsatilla*, přičemž největší snaha byla u druhů *P. vernalis* a *P. patens* vzhledem k jejich kritickému stavu na území České republiky (Šedivá a Žlebčík, 2012).

### 2.4 Zahradní kultivace

Mezi alternativní přístupy pro ochranu významných druhů rostlin je využívána přímá spolupráce mezi ústavu zabývající se jejich ochranou a soukromníky, kteří aktivně pomáhají na svých pozemcích či přímo v biotopech ohrožených rostlin s jejich množením a udržením vysoké diverzity v dané lokalitě krajiny. Jedním z takovýchto přístupů je i projekt ochranné kultivace rostlin mezi obyvateli.

Tato ochrana je provozována v blízkosti přirozených stanovišť výskytu ohrožených druhů, které chceme chránit. Probíhá přímo na zahradách lidí, kteří žijí v blízkosti tohoto stanoviště a snaží se pomoci vymírajícím druhům vytvořit nové lokální zdroje genofondu. Důležitý význam tohoto alternativního přístupu spočívá v zapojení místních obyvatel a vzbuzení jejich zájmu o ochranu přírody (Pánková et al., 2018).

První projekt tohoto druhu ochrany biotopů se začal používat ve Švýcarsku v roce 1998 v Curychu. V roce 2011 už bylo ve švýcarském projektu pěstováno 75 ohrožených druhů a k projektu se připojilo přes 70 obyvatel (web 2) a následně byl tzv. švýcarský model s tímto druhem ochrany a obnovy diverzity uplatňován v dalších zemích, a to i u nás v České republice (Pánková et al., 2018).

Lidé se do těchto projektů přihlašují sami a následně procházejí školením pod vedením odborných pracovníků, kteří je seznamují s dodržováním správných postupů kultivace. Ty mohou být pro každý druh jiné. Všechny ale vychází z pěstování rostlin bez jakéhokoliv hnojení.

Podarí-li se zahrádkáři rostlinu vypěstovat, pak se vše včetně semen ukládá na tzv. sběrná místa, kde se vypěstované rostliny i semena zkontrolují. U vypěstovaných rostlin jsou nejdůležitějšími kritérii kontroly nepřítomnost parazitů či jiných chorob, ale i známky počínající hybridizace. U semen jsou kritéria zaměřená na nezralost či napadení parazity či plísněmi. Poškození jedinci jsou vyloučeni z populace. Zdravé rostliny jsou uloženy na příští vegetační období a následně navraceny zpět do přírody. Po vysazení v přírodě jsou všechny rostliny monitorovány. Sledováno a hodnoceno je procento přeživších, ale také i počet vzešlých semenáčků (Pánková et al., 2018).

Ex situ ochrana na soukromých zahradách se v České republice v některých věcech od Švýcarska liší. Například se nesnaží o šíření druhů na nová stanoviště, ale snaží se navrátit druh na původní stanoviště. Projekt se podle tzv. švýcarského modelu snaží podporovat zájem a zapojení místních obyvatel do ochrany přírody. Dohlíží a minimalizuje míchání jednotlivých rostlin z různých míst původu z důvodu zachování základního principu populační genetiky (Pánková et al., 2018). Podle švýcarského modelu byl v České republice uskutečněn dosud jediný projekt týkající se záchranného pěstování kuřičky hadcové v roce 2016.

Další možnou cestou, která by propojila přístup ochrany ex situ s in situ ochranou, je péče o populace vzácných a ohrožených druhů rostlin v malých chráněných územích. Takové populace by rostly v podmínkách podobných podmínkám přirozeným a pouze s minimálním zásahem člověka (Web 7).

### 3 Využití materiálu z ex situ ochrany

Odborná činnost ex situ ochrany, jež se týká zachování ohrožených druhů rostlin, vychází z využití maximálně kvalitního genetického rostlinného materiálu. Přesun genetického materiálu z umělého stanoviště ex situ ochrany probíhá různými procesy.

Prvním ze zmiňovaných procesů lze jmenovat způsob tzv. reintrodukce, jiným slovem repatriace, jež je procesem, kdy jde o znovu vysazení populace druhu na místech, z kterých druh vymizel. Z dalších možných procesů lze jmenovat způsob tzv. posilování populací, při kterém se zabráňuje vyhynutí druhů rostlin zvyšováním početnosti určitých populací.

Dalším způsobem je např. způsob tzv. introdukce, při kterém se v případě nemožného obnovení populací v místě původního stanoviště vytvářejí nové populace druhů na nových stanovištích. Dále pak způsob tzv. translokace, která probíhá na stanovištích v přírodě a znamená, že planě rostoucí jedinci téhož druhu z jiných oblastí jsou přesunuty na ohrožená stanoviště (Web19). Nevýhodou translokace je však možnost, že se druh po přemístění může stát invazivním, případně může zanést patogeny do stávajících populací (Maschinski, 2017).

Před zahájením vysazování zpět do přírody by se mělo odůvodnit, jestli je to pro daný druh potřebné a oprávněné. To je v případě, když je druh vyhynulý nebo ohrožený. Dále je důležité zjistit, co daný druh ohrožuje a zajistit nepřítomnost dané hrozby na místě vysazení. Také se pro znovuzavedení doporučuje vysazovat co největší populace (více než 50 rostlin), což zvyšuje pravděpodobnost přežití druhu. Dalším důležitým parametrem je dostatečná vzdálenost jedinců, aby měly potřebný prostor pro růst kořenů a větší šanci na přežití (Maschinski, 2017).

Znovuzavedení druhů je dlouhodobou záležitostí a jejich úspěšnost se ukáže až po několika desetiletích. Proto je důležité vedení záznamů o průběhu akcí a jejich následné sdílení s odborníky, kteří se z daných informací mohou poučit (Maschinski, 2017).

Mezi organizace využívající výše jmenované postupy v České republice lze zařadit například Botanický ústav AV ČR spolu s Chráněnou krajinářskou oblastí Třeboňsko (dále jen CHKO), které některé vybrané kriticky ohrožené druhy vysazují zpět do přírody. Jedná se o uměle vytvořené lokality na Třeboňsku. Jsou to třeba revitalizované biotopy po těžbě písku nebo malé lesní pískovny, které jsou kvalitní náhradou rybníků s písčitým dnem, jež se v dřívější době běžně vyskytovaly na Třeboňsku, ale v poslední době mizí díky eutrofizaci. Díky aktivní činnosti odborných pracovníků ústavu jsou vysazovány hlavně druhy rostoucí na vlhkém písčitém substrátu a také již zmiňované druhy rostoucí na obnažených dnech rybníků. Materiál ze sbírek

se používá i k posílení přírodních populací. Tato rozsáhlá a velmi hodnotná sbírka Botanického ústavu AV ČR v Třeboni se podílí i na záchranných programech, které v České republice slouží k záchraně rostlinných druhů, například se podílela na záchraně rdestu dlouholistého (*Potamogeton praelongus*) (MŽP, 2005; Web5; Web6).

Též Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví v Průhonicích využívá výše jmenované procesy, například pro repatriaci rostlin na jejich původní stanoviště, která proběhla u rodu *Pulsatilla*. Vysazování probíhalo mezi roky 2004–2011 a bylo vysazeno celkem 282 rostlin, z toho bylo 244 rostlin *P. vernalis*, 33 rostlin *P. pratensis* ssp. *bohemica* a 5 rostlin *P. patens*. Z úspěšné výsadby přežilo 258 (91,5 %) rostlin a starší jedinci už i produkují nová semena (Šedivá a Žlebčík, 2012).

## 4 Problémy ex situ ochrany

Každá strategie záchrany biodiverzity má svá úskalí, neboť zásah člověka do primárního vývoje rostlin nikdy nebude roven svobodnému vývoji populace na jeho původním stanovišti. Sami vědci si uvědomují, že narušení nebo dokonce zastavení přirozeného vývoje rostlin je právě největší nevýhodou ochrany ex situ (Prance, 2004), neboť shromážděný rostlinný materiál v ex situ sbírkách je vystavován řadě nových ekologických a selekčních tlaků. Mezi ekologické tlaky lze zařadit infekční tlak patogenů, působení škůdců, nadbytek či nedostatek živin, sluneční záření, nedostatek kyslíku, vody nebo nevhodné hodnoty pH. Mezi selekční tlaky patří například ztráta možnosti reagovat na přírodní změny ekosystému, protože v přírodě rostliny přirozeně reagují na sucho, bouře, sníh, kolísání teplot, nadměrné deště, požáry a patogeny přizpůsobováním svých genofondů podmínkám daného prostředí. Zároveň je materiál izolován od silnějších druhů rostlin, které slabší populace v přirozeném prostředí ohrožují, a tím je oslabována jejich obranyschopnost, neboť slabší populace neposilují svůj genofond a tím za určitých okolností nesílí a rychle se nemnoží (Ensslin, 2011). Dalšími tlaky může být rozdílné klima a mikroklima (pařeniště, skleníky), zvýhodněné zahradní podmínky (zálivka, nepřítomnost velkých herbivorů) nebo tlak chorob a škůdců. Tyto tlaky pak mohou mít za následek oslabení populace a změnu původního složení vzorku, který podléhá genetické modifikaci a je po vysazení ve volné přírodě schopen méně přežít. Z těchto důvodů je celý proces ochrany od místa odběru až po navrácení do přírody velmi náročný, a to i na udržení rozmanitého a životaschopného rostlinného materiálu (Guerrant et al., 2004).

Problémy ochrany se mohou vyskytovat již ve zdrojových populacích, poté při sběru a dokumentaci materiálu, také samozřejmě během kultivace a při navrácení rostlin zpět do přírody.

### 4.1 Problémy zdrojových populací

Nezbytnou podmínkou pro úspěšné odebrání zdrojové populace je dokonalá příprava záchranného programu, která závisí na dostatečném množství informací o daném rostlinném druhu. Tyto informace jsou následně použity pro vybrání nejvhodnějšího zdrojového materiálu a pro nastavení nejlepší péče o odebranou zdrojovou populaci, neboť právě u zdrojových populací je většinou problémem kvalita původní populace (Ensslin, 2011).

Většinou se však jedná o malé zdrojové populace, se kterými je těžké pracovat. Z takovýchto populací nemůžeme sebrat dostatečné množství vzorků a kvůli tomu nám pak hrozí možné



genetické problémy při kultivaci. Také z nich nemůžeme sebrat moc materiálu, abychom populaci nezahubili a zůstalo v ní dostatečné množství semen pro další reprodukci (Web 11).

## **4.2 Problémy při sběru a dokumentaci**

Při sběru rostlin z přírodních populací může dojít k úmyslnému i neúmyslnému výběru. V případě neúmyslného výběru může být popud k sběru semen dán například oslovením sběratele tvarem rostliny, barvou květů či velikostí rostliny ze které se snadněji sbírají semena. Tímto výběrem můžeme sesbírat rostliny které nepřežijí kultivaci na místo méně nápadných jedinců, kteří by ji přežili. Dále pak vezmeme-li z relativně velké populace malý vzorek, může sběr způsobit genetický drift, tzv. změna frekvence genových variant v důsledku odběru vzorků, která ovlivňuje genetickou i fenotypovou variabilitu populace (Espeland et al., 2017). A určitě lze také zmínit tzv. efekt hrdla, ke kterému by mohlo dojít u vzácných a ohrožených druhů rostlin z důvodu prudkého poklesu počtu jedinců v populaci, ke kterému dojde právě při odebrání malého vzorku z velké populace. Díky tomuto nečekanému poklesu pak dojde ke snížení genetické diverzity populace, protože všechny genetické možnosti nebudou mít možnost se do zmenšené populace vejít. Tento efekt je při krátkodobém uvažování nevratný. I při obnovení velikosti populace alely, které byly ztraceny zůstanou ztraceny. Genetická diverzita se pak začne zase zvyšovat, ale tento proces bude trvat velmi dlouho (Web 11).

### **4.2.1 Genetický drift**

Genetický drift je evoluční proces, při kterém dochází k nepředvídatelným posunům ve frekvenci jednotlivých alel u populací, které jsou ohrožené ztrátou potenciální a adaptabilní genetické variace (Flegr, 2007). Nejvíce se projevuje u malých populací. Tyto změny vznikají tam, kde se mění počáteční velikost populací v následujících letech života a kdy se jejich generace neprolínají. Zvýšení vlivu genetického driftu je též patrný v případě, vyskytují-li se rostliny v tzv. subpopulacích neboli kompaktních populacích jednoho druhu, které se vyskytují na vymezeném společném prostředí, jako je právě ve sbírkách ex situ (Ensslin et al., 2015). Genetický drift také snižuje schopnost populace reagovat na selekci (Espeland et al., 2017).

Očekávané účinky driftu na genetickou diverzitu procházely již od 70. let 20. století vědeckými studiemi, které publikovaly nalezený vztah mezi znakem velikosti populace a diverzitou enzymů. Většina studií se však zaměřila na diverzitu v neutrálních genech, které ve svých výsledcích

nedefinovaly, zda pokles genetické variability má jakékoliv negativní dopady na životaschopnost populace nebo evoluční potenciál (Husband et al., 2004). Možnostmi, jak zabránit nebo alespoň snížit vliv genetického driftu je zvětšení velikosti populace, vyrovnaní velikosti rodin, tj. udržování podobného poměru potomků různých matek a udržování vyrovnaného počtu jedinců různých generací. Zároveň je také důležitá pravidelný přísun z přírodních populací (Ensslin et al., 2015).

**Během dokumentace** materiálu může dojít ke ztrátě informace o původu rostlin. Prvopočáteční projekty záchran ohrožených druhů rostlin totiž nevyužívaly tak rozvinuté koncepce opatření a vedení informací jako v současné době, a proto jsou data o výzkumném materiálu omezené. U vzorků, které jsou v genetických bankách uloženy již od samého prvopočátku působnosti daných institucí, chybí totiž informace o původu některých rostlin. Tyto informace se buď nedochovaly, případně u některých vzorků nebyly ani pořízeny. Z těchto důvodů není dostupný jejich genový původ, který by ovlivnil nežádoucí směšování na úrovni subpopulací. Ochrana ex situ by proto u takových vzorků byla neefektivní (Web 8).

Nevýhodou velkého pole vznikajících mezinárodních a národních ochranných institucí je fakt, že sběr a uchovávání rostlinného materiálu již nepodléhá celoplošně nastavené regulaci, a každý stát má právo rozhodovat o svých genových zdrojích a určovat, kdo je může vlastnit, kdo je může používat, k jakým účelům mohou být použity atd. Z těchto důvodů se svět stále ještě plně potýká s nesystematickým sledováním informací a shromažďováním genových zdrojů planě rostoucích rostlin, které se dlouhodobě uchovávají bez záruky. V celkovém pojetí není dosud zpracována mezinárodní koncepce a program, jež by pokryly inventarizaci, hodnocení a udržování těchto sbírek (Roudná et al., 2007). Proto je třeba v oblasti sdílení vědeckých výsledků širokou kooperaci mezi národy, ale i mezi jednotlivými ústavy obnovovat, udržovat a posilovat (Web 8).

### 4.3 Problémy vzniklé během kultivace

Hlavním problémem ex situ ochrany při kultivaci jsou především malé populace rostlin, které lehce podlehnou mnoha rizikům (Schaal a Leverich, 2004). Jedním z rizik, které se objevují u těchto malých a izolovaných populací, je vliv genetické eroze, tzn. vytrácení genetické diverzity, jež v průběhu kultivace probíhá napříč generacemi. Tyto vlivy jsou ve vysoké míře podmíněny inbreedingem (křížením mezi příbuznými jedinci), zmenšeným tokem genů, genetickým driftem a dále pak akumulací nebezpečných mutací (Abeli et al., 2020). Tyto následky jsou umocněny různou adaptabilitou a selekcí zdrojové populace, případně založením populace ex situ ze semen, které pocházejí z více zdrojů. U takovýchto ex situ populací se lze obávat účinků křížení nesourodých genomů nebo outbreední deprese (křížení jedinců stejného druhu z jiných prostředí) (Ensslin et al., 2015). Také by mohlo v důsledku těchto vlivů dojít ke změně fenotypů rostlin, které by se pak mohly snadno přizpůsobit podmínkám kultivace (Schoen a Brown, 2001; Ensslin et al., 2015; Espeland et al., 2017).

Nejnovější strategie se snaží zabránit genetické erozi posilováním populací v kultivaci materiálem z přírody a pokouší se minimalizovat dopady za účelem dosažení genetické rozmanitosti dané populace srovnatelné s genetickou rozmanitostí populací volně žijících (Abeli et al., 2020). K posílení genetické rozmanitosti vede mezinárodní spolupráce v oblasti výměny částí sbírek a jednotlivých rostlin mezi botanickými zahradami a semennými bankami z celého světa, neboť vědecká obec si je vědoma, že užití materiálu rozmnožovaného nebo uchovávaného ve jmenovaných institucích nese značná rizika, která mohou ohrozit úspěšnost budoucího rozšíření biodiverzity (Abeli et al., 2020). Vyměněné materiály se využívají například pro křížové oplodnění, které efektivně zachovává genetickou rozmanitost ex situ, na rozdíl od výměny klonů nebo jedinců vzniklých inbreedingem, ze kterých mohou vzniknout geneticky podobné populace. Při zdokonalení genetické diverzity touto cestou se však zvyšují náklady na údržbu dalších rostlin (Ensslin et al., 2015).

Dalším nedostatkem mohou být nevyhovující prostory ex situ ochrany. Jednotlivá uložení rostlin mohou mít vliv na hybridizaci (křížení dvou různých druhů) mezi blízkými příbuznými druhy, která vzniká kvůli překrývajícím se obdobím kvetení a tomu, že jsou rostliny pěstovány blízko u sebe (Abeli et al., 2020). Riziko hybridizace nastává ve sbírkách, kde jsou populace či druhy, které se přirozeně vyskytují allopatricky (vyskytující se zcela odděleně), pěstované v sympatrii (původ a soužití druhů nebo populací ze stejného geografického území) u těchto sbírek pak vznikají přirozeným křížením nové hybridy (Maunder et al., 2001). K hybridizaci dochází nejen v rámci

jedné sbírky, ale také mezi rostlinami ve sbírce a planě rostoucími populacemi (Havens et al., 2006).

Mezi další problémy strategie ex situ ochrany lze zmínit i historii kultivace a růstové podmínky v ex situ sbírkách, které mohou ovlivňovat míru fenotypové diferenciace mezi populacemi v ex situ sbírkách a planě rostoucími populacemi. Velkou roli, obzvláště z dlouhodobého hlediska, může mít i umělý výběr a přizpůsobení se rostlin novým prostředím (Ensslin et al., 2015) a následná ztráta adaptací na původní stanoviště v přírodě (Volis, 2017).

### 4.3.1 Inbreeding

Jak je výše řečeno k inbreedingu neboli k příbuzeneckému párování dochází díky malým velikostem populací, tudíž malému počtu genotypů. Problémem při tomto párování je fixace negativních vad v genofondu. Ty pak mají za následek snížení adaptačních schopností celé populace. Takto vzniklá populace však neodpovídá zdravému genofondu populací v přírodě, neboť tímto způsobem se sjednocuje i vnímavost k patogenům, což může mít za následek snadnější vyhynutí postihnutých jedinců. V nezdravých populacích častěji dochází k uplatnění frekvence škodlivých alel dominantních, intermediálních a recesivních. Nejrychleji jsou z daných rostlinných populací vylučovány škodlivé alely dominantní. Pomaleji jsou z populací odstraňovány intermediální alely a nejpomaleji alely recesivní. Dominantní a intermediální alely při příbuzeneckém křížení jsou velmi vzácné, recesivní alely naopak vytrvávají a nesou genetické choroby, jež jsou pro populace neobvyklé. Nepříznivý vliv inbreedingu je tím větší, čím je recesivní alela vzácnější (Schaal a Leverich, 2004). U některých druhů může například způsobit nižší klíčivost, pomalejší růst, menší velikost rostlin, změnit čas kvetení nebo snížit plodnost jedinců (Espeland et al., 2017).

Inbreeding také vede k zvyšování homozygotnosti, tj. k vyštěpení letálních či jinak škodlivých alel. Zvyšování homozygotnosti může mít pak vliv na kondici populace, tj. snižování životnosti a výkonnosti potomstva. V extrémních případech může u rostlin dojít až k úplné nepřítomnosti heterozygotů (Relichová, 2009).

Poklesu vitality potomstva se říká inbrední deprese. Každý rostlinný druh je depresí ohrožen jinak. Například extrémní je to u vojtěšky, kde díky inbreedingu vznikají právě homozygotní rostliny, které nejsou schopny přežít. Naopak jsou tu pak druhy, které jsou tolerantní k inbreedingu a deprese u nich má minimální význam, například slunečnice (Relichová, 2009).

Aby se tedy zabránilo inbreedingu a program ex-situ ochrany byl účinnější, musí se zajistit velký počet jedinců nebo výměna materiálu mezi zahradami (Web 10).

### **4.3.2 Hybridizace**

Hybridizace je v ex situ ochraně, která disponuje malými prostorami a zároveň vytváří rostlinám velmi omezené podmínky kontaktu s okolními divokými populacemi, běžným jevem. Díky malým sbírkám populací rostlin a minimálnímu procentu toků genů s divokými populacemi ohrožených druhů probíhá pouze na úrovni ex situ sbírek, tj. přímo hybridizací mezi kultivovanými zásobami. K hybridizaci v ex situ sbírkách dochází kvůli odstranění geografické izolace, která je jednou z nejdůležitějších problémů běžné překážky křížení. Jejím odstraněním se vytvoří nové příležitosti k hybridizaci mezi dříve izolovanými taxony (Maunder et al., 2004).

#### **4.3.2.1 Vnitrodruhová hybridizace**

Hybridizace mezi různými lokálně adaptovanými populacemi jednoho druhu může způsobit outbreední depresi, při které dochází ke snížení zdatnosti potomků v důsledku introgrese (vnesení genu jednoho druhu do genomu jiného), nebo rozpadu společně upravených genových komplexů (Aavik et al., 2012). Jinými slovy můžeme říci, že outbreední deprese vzniká při křížení geograficky oddělených, nebo geneticky odlišných populací, například s jinými chromozomy, či enzymovými systémy. Tímto křížením může u potomků dojít ke ztrátě vlastností specifických pro lokální populace umožňujících jejich přežití (Relichová, 2009).

Aby bylo zabráněno inbreední a outbreední depresi, mělo by být zajištěno, aby optimální stav ex situ sbírky byl postaven na složení rostlinného materiálu z velkých, geneticky variabilních evolučních linií, které pochází ze stejné oblasti, na vyrovnaném zastoupení jedinců z různých rodin, občasném přísunu jedinců z přírody a zohlednění reprodukčního systému druhu a historii genového toku (Ensslin et al., 2015).

#### **4.3.2.2 Mezidruhová hybridizace**

Přirozená hybridizace je spousty biologů, zahradníků i pěstitelů považována za konstruktivní proces, který vede k pozoruhodné a možná i užitečné nové diverzitě ve formě umělých i spontánních hybridů. Termín hybrid, jenž je koncovým produktem procesu, dle genetiků označuje potomky jakékoli geneticky jiné linie. Dle taxonomů jsou to potomci taxonomicky

jiných rodičů. Tyto hybridy mají následně sníženou životaschopnost, kterou přenáší na celou populaci. Tím populace produkovaná z hybridního semene na úkor specifického semene má nižší produkci plodných hybridů, jež způsobuje pokles poměrného zastoupení vzácných druhů rostlin a tím i související pokles podílu „čistého“ potomstva (Maunder et al., 2004).

Přirozená hybridizace má významnou úlohu v evoluci rostlin a v přírodě jde o zcela běžnou věc. Ale pokud se chce zachovat „přirozená“ genetická stavba populací planě rostoucích rostlin, mohou být hybridy bráni jako možní kontaminanti (Maunder et al., 2004).

Ex situ sbírky jsou často zdrojem spontánních hybridů, neboť ve sbírkách jsou rostliny nebo jejich části pěstovány v delším časovém úseku velmi úzce vedle sebe. To vede k jejich kontaminaci, která potenciálně přispívá k narušení genetické asimilace a zániku přirozených populací vzácných a ohrožených druhů. Výsledky spontánní hybridizace a její vliv se obvykle projeví až po několika desetiletí nebo až po staletí (Maunder et al., 2004).

Umělá hybridizace bývá v ex situ konzervačních programech použita za některých, byť extrémních okolností. Jedná se například o využití jako nástroje k obnovení plodnosti u vysoce ohrožených druhů, které nejsou schopny produkovat semeno nebo jako poslední možnost pro záchranu některých genetických informací přítomných v druhu před jeho vyhubením. Tato hybridizace však může také ovlivnit úspěch ochrany ex situ mnoha škodlivými způsoby například outbreední depresí (Maunder et al., 2004).

Dalo by se čekat, že hybridy vzniklé ve sbírkách by mohli představovat potenciál pro planě rostoucí populace na přírodních stanovištích, ale v praxi je většina těchto druhů závislá na zařízeních ex situ. Důvodem této závislosti může být skutečnost, že hybridy jsou ve volné přírodě vystaveny tlakům okolí, se kterými se v zařízeních vyrovnávat nemusejí. Tyto výsledky vedou k závěru, že pokud jedinci nebudou schopni snadného šíření v přirozených podmínkách, rychlé adaptability a vysoké samoplodnosti, je velice nepravděpodobné jejich rozmnožování mimo zařízení (Maunder et al., 2004).

V zařízeních ex situ je tedy nutné kontrolovat hybridizaci a snižovat její rizika, neboť jediné kontrolovaná hybridizace ve sbírkách ex situ může zachovat zdravé obnovené druhy pro jejich záchranu. Hybridizace je totiž chápána spíše jako destruktivní než konstruktivní proces, neboť hybridy mají sníženou ochrannou hodnotu. Vědci si uvědomují, že běžný spontánní výskyt hybridizace v populacích je nezastavitelný a že ve sbírkách ex situ ochrany má tento proces důležité důsledky pro celou ochranu ex situ z důvodu potenciální ztráty genetické integrity

semenného materiálu. Proto většina hybridů vznikajících ve sbírkách zůstává omezena na zařízení ex situ (Maunder et al., 2004).

### 4.3.3 Adaptační ke kultivaci

Samotná činnost ochranných institucí přináší velmi výrazné problémy, které se odrážejí na kvalitě ex situ ochrany rostlin v jejich prostorách. Tyto problémy zahrnují nejen oblast živého materiálu, ale i oblast tkáňových kultur či semenných bank.

Rostliny botanických zahrad, na rozdíl od rostlin žijících na přirozených stanovištích, nemají možnost reagovat na přírodní změny ekosystému. V přírodě rostliny přirozeně reagují na sucho, bouři, sníh, kolísání teplot, nadměrné deště, požáry a patogeny přizpůsobováním svých genofondů podmínkám daného prostředí. V botanických zahradách jsou rostliny zahrnuty lidskou péčí, například odplevelováním, hnojením, pravidelným zaléváním a v některých případech i ošetřováním vzácných sbírek pesticidy. Tato péče má za následek oslabení populace, přinášející genetických změn rostlin a přizpůsobení jednotlivých druhů umělým podmínkám (Husband a Campbell, 2004). Lidskou péčí a izolací druhů tak ztrácí tyto organismy šanci přizpůsobení se primárnímu ekosystému. Rostlinný potenciál zastavuje svůj proces schopnosti přeměny, neboť pod péčí v zahradních kultivacích získává nadbytek vody a živin. Je izolován od silnějších druhů rostlin, která slabší populace v přirozeném ekosystému ohrožují a ohrožené rostliny musí na tento stav přirozeně reagovat, posilovat svůj genofond a za určitých okolností silně a rychle se množit (Ensslin et al., 2011).

Ochranná činnost kultivací ex situ přináší další nevýhodu, neboť vedle ovlivňování vývoje kultivovaných rostlinných populací může vzniknout i ovlivňování schopnosti jedince snášet stres. V důsledku toho jsou mnohdy translokace rostlinného materiálu do přírodních stanovišť nebo v samotných populacích rostlin v rámci ex situ ochrany neúspěšné (Ensslin et al. 2015). Mezi největší nevýhody úložišť sbírek v oblasti kultivace lze zařadit úplnou izolaci semen, neboť jakmile dojde k převodu semen do režimu dlouhodobého uchování, jsou rostliny vyjmuty z evolučních procesů, kterým byly vystaveny na svých primárních stanovištích. Tím se u semen zastaví přirozený vývoj a jejich absence v měnících se přírodních podmínkách přináší nenávratné změny v jejich genofondě. Z dlouhodobého hlediska se užitečnost uchovávaného materiálu snižuje a jejich klíčivost a schopnost množení v přírodě minimalizuje (Roudná et al., 2007).

I v oblastech tkáňových kultur neboli in vitro ochrany můžeme nalézt nevýhody adaptace rostlin. Za zmínku stojí například nevýhoda nízké životaschopnosti materiálu, protože dlouhodobé

ukládání materiálu v kultuře je náročné. V tomto směru má významný potenciál aplikace kryokonzervace, zmíněná v kapitole tkáňové kultury, která prodlouží dobu uložení materiálu (Sarasan et al., 2006).

Neméně závažnou nevýhodou *in vitro* kultury je somaklonální variabilita, kdy dochází ke genetickým změnám u rostlin vedoucích k potomkům se změněnými vlastnostmi. Dojde k ní například ošetřením regulátorem růstu rostlin (PGR) nebo pokračující subkultivací. Variabilita bývá výrazným nedostatkem všech rostlin pěstovaných způsobem *in vitro*, zejména pak sbírek ochrany, kde je pro programy obnovy zapotřebí produkce klonového materiálu pro znovuzavedení do přírody. Somaklonální variabilita může být dědičná i nedědičná a nelze ji moc dobře předpovědět, proto se množení somoklanů pro účely ochrany nedoporučuje (Sarasan et al., 2006). Aby se variabilitě zabránilo, mělo by se snížit používání PGR, jenž jsou pro ni stimulanty, a také by se měly zavést důkladné screeningové metody pro odstranění somaklonů ze sbírek (Sarasan et al., 2006).

Dalším problémem při adaptaci na kultivaci je ztráta dormance semen. Dormance semen je důležitá vlastnost, díky které je zabráněno klíčení semen v období nevhodném pro přežití semenáčků. Jinými slovy se jedná o fyziologický stav semene, kdy semeno není schopno klíčivosti, přestože má pro svou klíčivost vhodné tzv. vnější podmínky (vlhko, teplo a kyslík). Postrádá však specifické tzv. vnitřní podmínky, jako například perioda potřebné výše teploty, nepropustnost povrchové vrstvy pro vodu, vhodné vlnové délky světla atd. (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006).

Při pěstování druhů planě rostoucích rostlin s krátkou životností dochází k vysokému riziku ztráty dormance semen (Ensslin et al., 2018). U semen nastává tzv. domestikační syndrom, při kterém vznikají velké změny právě v klíčivosti semen, ale také v procentu klíčivosti. Změny lze zaznamenat i ve fyziologii semen a v rychlosti klíčení (Meyer, Du Val a Jensen, 2012).

Zatímco u užitkových rostlin je ztráta dormance semen brána spíše jako pozitivní vedlejší účinek jejich domestikace, u planě rostoucích rostlin pěstovaných *ex situ* v botanických zahradách je tato změna nežádoucí (Ensslin et al., 2018). Existují obavy, že ztráta dormance semen by mohla mít s největší pravděpodobností závažné důsledky pro demografii volně žijících populací (Allen & Meyer, 1998). Z tohoto důvodu by mohla nebezpečně ohrozit úspěšné znovuvysazení rostlin (Ensslin et al., 2018). Z pohledu zachování přirozených vlastností klíčivosti u rostlin pěstovaných *ex situ* je nutné zjistit, proč dochází ke změnám ve vlastnostech semen a proč některé skupiny druhů jsou náchylnější na tyto změny než ostatní skupiny (Ensslin et al., 2018).



Tendenci ke ztrátě dormance semen u rostlin pěstovaných v botanických zahradách metodami ex situ mají spíše krátkověké rostliny, proto pro stálé sbírky ex situ vědci upřednostňují víceleté rostliny, které typicky dormantní semena nemají. Ovšem ani ty by neměly být ve sbírkách příliš dlouhou dobu (Ensslin et al., 2018). Jestliže dojde během kultivace ex situ ke ztrátě dormance, může být velice obtížné použít rostlinný materiál pro reintrodukcii zpět do krajiny. Příkladem ztráty dormance semen je *Cynoglossum officinale* (Ensslin et al., 2018). Chceme-li zabránit dormanci semen ve sbírkách, účinnou formou by mohlo být zachování dormance u dlouhodobých sbírek napodobením přirozené dynamiky a časového řádu klíčení v zařízeních ex situ (Ensslin et al., 2015), nebo minimalizace použití osivového materiálu pěstovaného v zařízeních ex situ, který by dormanci semen omezil (Ensslin et al., 2018). Bohužel důvody všech změn v klíčivosti semen ve sbírkách ex situ nejsou dosud známy. Obdobně není znám ani jejich kompletní rozsah (Ensslin et al., 2018).

Podíváme-li se na dlouhodobé výsledky ex situ ochrany v této oblasti, je již zřejmé, že ty druhy, které dnes kultivací chráníme, mohou být pro budoucí využití a zavedení zpět do volné přírody zcela nepoužitelnými, neboť neúmyslná selekce při sběru semen, jejich uskladnění, klíčení a množení, nadměrná lidská péče o rostliny ve sklenících a zahradách, a nové techniky ex situ ochrany způsobují změnu a oslabení rostlin ohrožených druhů tak, že při návratu do volné přírody nezvládnou tlaky okolí a nepříznivé podmínky (Ensslin et al., 2015; Web 9).

#### **4.3.4 Akumulace mutací**

Mutace jsou zdrojem genetické diverzity. Ta přináší náhlé dědičné změny v počtu a struktuře chromozomů organismu, které vznikly vzájemným působením. Mutantní změny genotypu mají několik podob. Jsou to například genové změny probíhající v jednom genu, genomové změny probíhající ve větším počtu chromozomů, chromozomální změny týkající se většího úseku DNA a změny cytoplazmatické, které jsou změnami genů v cytoplazmě (Drake et al., 1998).

Akumulaci mutací může umožnit nepřítomnost selekce a následně je může zafixovat genetický drift. Minimalizace efektů neúmyslné selekce se dá docílit udržováním správné velikosti rodin, minimalizováním zalévání, hnojení a pletí a udržováním druhu v podmínkách, které odpovídají substrátem, zástinem, vlhkostí atd. co nejvíce přirozenějšímu stanovišti (Ensslin et al., 2015).

Nevýhody všech typů mutací spočívají ve změnách DNA, které nesou nežádoucí účinky pro celé rostlinné populace. Výchozí rostlinný materiál je tak vystaven stresovým faktorům, ty poté zvyšují akumulaci v mutacích. Mezi stresové faktory lze zařadit sucho, teplo, chlad, nedostatek kyslíku, zasolení a toxikace půdy, nadbytek ozonu a přesvětlení. Tyto faktory pak ovlivňují

procesy a zvýšenou kumulaci látek ve strukturách rostlin. Výsledná životaschopnost rostlin je následkem této kumulace velmi nízká (Řepková, 2013).

#### **4.3.5 Kontaminace in vitro kultury**

Hlavní nevýhodou kultivací in vitro je kontaminace exogenního (vnějšího) nebo endogenního (vnitřního) původu (Sarasan et al., 2006). Ke kontaminaci z vnitřních zdrojů může dojít, když zůstanou ve vzorku bakterie nebo houby, které se snažíme zničit sterilizací. Při sterilizaci záleží na povaze použité tkáně, neboť na taxonomické skupiny rostlin působí různé sterilizační látky různě, proto se využívá velké množství chemických látek. Například to je dichloroisocyanat sodný (SDICN), který se hojně využívá v RBG Kew. Dále jsou to fungicidy a antibakteriální sloučeniny, které dokáží odstranit endofytickou kontaminaci. Mezi další látky, které se používají, lze zařadit například chlornan sodný a vápenatý (Sarasan et al., 2006). Ke kontaminaci exogenního původu může dojít například chybou člověka, a to špatnou manipulací s materiálem nebo použitím špatně sterilizovaných nástrojů (Šedivá, 2002).

#### **4.4 Problémy při vrácení rostlin zpět do přírody**

Problémem při vrácení rostlin zpět do přírody je, že se rostliny nemusí přizpůsobit danému stanovišti a tím pádem nebudou schopny růst a dále se množit. Také se může změnit jejich interakce s opylovači nebo herbivory díky ztrátě jejich obranných mechanismů nebo v důsledku změny fenologie během kultivace, což může způsobit nemožnost množení a růstu. Také se může změnit interakce s dalšími rostlinnými druhy a vliv na jejich populace (Ensslin et al., 2015). Dalším problémem je možná hybridizace s druhy v přírodním stanovišti (Maschinski, 2017). Při reintrodukci může také dojít k přenosu patogenů do přírodních populací (Maschinski, 2017).

## **Závěr**

Cílem bakalářské práce bylo zmapovat možnosti ochrany ex situ vzácných a ohrožených druhů rostlin a přiblížit jejich výhody a nevýhody.

V první části práce jsou zmapovány standardní způsoby ex situ ochrany, kterými jsou semenné banky, tkáňové kultury, botanické zahrady a v České republice začínající zahradní kultivace na soukromých zahradách. V rámci všech výše uvedených standardních způsobů ex situ ochrany byly popsány postupy způsobu sběru jednotlivých částí rostlin, ale i způsoby jejich zpracování, uchovávání a následného využití. Též je v práci přiblížena důležitost mezinárodní spolupráce, například ve výměně materiálu mezi institucemi, jejíž význam se zhoršujícími klimatickými podmínkami neustále roste.

Hlavní výhodou ochrany ex situ je možnost množení vzácných a ohrožených druhů rostlin, které by za normálních okolností v přírodě vyhynuly. Dále je výhodou možnost uchování a množení vzácných druhů rostlin, u kterých by mohlo dojít k vymizení. Tento materiál je pak velmi důležitý pro případnou reintrodukcii. Výhodou semenných bank a tkáňových kultur oproti pěstování rostlin v botanických zahradách je například uložení v malých prostorech nebo možnost uchování semen po dlouhou dobu pomocí kryokonzervace.

Druhá část práce přibližuje problémy v ex situ ochraně, kde při kultivaci rostlinného materiálu byly odhaleny nežádoucí účinky u umělých stanovišť či dlouhodobějšího uskladňování částí rostlin. V práci jsou rozděleny problémy ex situ ochrany do několika oblastí: problémy u zdrojových populací, problémy v oblasti sběru a dokumentace rostlinného materiálu, problémy v kultivaci a problémy při vysazování zpět do přírody. Všechny jmenované a v bakalářské práci zmiňované oblasti mají základní problém, a to nedostatek místa pro ex situ ochranu, který omezuje chráněné druhy rostlin držené v malých populacích a tím tyto populace nejsou dostatečně chráněny před jinými druhy rostlin. Dochází mezi nimi k vzájemnému křížení a následnému snižování vitality a plodnosti a tím k neschopnosti adaptability na svých přírodních stanovištích. Omezením genofundu rostlin je pak minimalizována životaschopnost populace, která je předem určena k záhubě. Cestou k posilování genofundu rostlin, zabránění nechtěnému křížení a následným vznikem dalších obtíží je rozšíření institucí zabývajících se ochranou, kde by se udržovaly rostliny, které by měly dostatečný prostor.

O ex situ ochraně ohrožených a vzácných druhů rostlin je ve všech zmiňovaných zdrojích minimum informací a většina existujících materiálů se týká pouze zemědělských rostlin nebo rostlin využívaných v jiných odvětvích průmyslu. V současné době neexistuje ucelený souhrn

všech strategií a jejich výhod a nevýhod. Z těchto důvodů minimální dostupnost a omezenost informací nedovoluje shromáždit hlubší odbornější poznatky o těchto strategiích. Hlavním důvodem je pravděpodobně stále přetrvávající omezený zájem o určité druhy rostlin a možná i kapacitní omezení úložišť v institucích, které ochranu ohroženým druhům poskytují. Z těchto důvodů zřejmě vzácné a ohrožené druhy rostlin ustupují do pozadí před zemědělskými rostlinami a rostlinami využívanými v jiných odvětvích průmyslu.

## Seznam použité literatury

- AAVIK, T., EDWARDS P. J., HOLDEREGGER R., GRAF R. a BILLETER R.: *Genetic consequences of using seed mixtures in restoration: A case study of a wetland plant *Lychnis flos-cuculi**. *Biological conservation* [online]. 2012, **145**(1), 195-204 [cit. 2020-05-29]. DOI: 10.1016/j.biocon.2011.11.004. ISSN 00063207.
- ABELI, T., DALRYMPLE, S., ODEFROID, S., MONDONI, A., MÜLLER, V. J., ROSSI G. a ORSENIGO, S.: *Ex situ collections and their potential for the restoration of extinct plants*. *Conservation Biology* [online]. 2020, 34(2), 303 313 [cit. 2020.04.04]. DOI: 10.1111/cobi.13391. ISSN 08888892.
- ALLEN, P. S., & MEYER, S.E.: *Ecological aspects of seed dormancy loss*. Seed Science Research, Cambridge University Press, 1998, Vol. 8, No 2, pp. 183191, DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960258500004098>
- BLACKMORE, S., et al.: *The Gran Canaria Declaration*. Botanic Gardens Conservation International, 2001, pp 6. Dostupné z: <https://www.cbd.int/doc/meetings/cop/cop-05/information/cop-05-inf-32-en.pdf>
- BRUMMITT, Neil A., BACHMAN S. P., GRIFFITHS-LEE J., et al.: *Green Plants in the Red: A Baseline Global Assessment for the IUCN Sampled Red List Index for Plants*. *PLoS ONE* [online]. 2015, **10**(8), 1-22 [cit. 2020-06-06]. DOI: 10.1371/journal.pone.0135152. ISSN 19326203.
- DOTLAČIL, L.: *Metody konzervace genetických zdrojů rostlin a možnosti jejich využití*. Metody a konzervace genofondu rostlin a možnosti jejich využití v ČR. Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha – Ruzyně, Praha, 19. listopadu 1998, s.25-35. ISBN 80-238-3569-6.
- DRAKE, JW, CHARLESWORTH, B, CHARLESWORTH, D, CROW, JF.: *Rates of Spontaneous Mutation*. *Genetics*. 1998, Vol. 148, No 4, s. 1667-1686. ISSN: 1943-2631
- DUBOVÁ, J., SMÍŠKOVÁ, A.: *Od rostlinné kultury „in vitro“ k biotechnologiím*. [online], [cit. 06.12.2016], dostupné z: <https://educoland.muni.cz/download-50/>

- ENSSLIN A., SANDNER T. M. a MATTHIES D.: *Consequences of ex situ cultivation of plants: Genetic diversity, fitness and adaptation of the monocarpic Cynoglossum officinale L. in botanic gardens. Biological Conservation* [online]. 2011, **144**(1), 272-278 [cit. 2020-06-07]. DOI: 10.1016/j.biocon.2010.09.001. ISSN 00063207.
- ENSSLIN A., TSCHOEPE O., BURKART M. a JOSHI J.: *Fitness decline and adaptation to novel environments in ex situ plant collections: Current knowledge and future perspectives. BIOLOGICAL CONSERVATION* [online]. 2015, **192**, 394-401 [cit. 2020-06-08]. DOI: 10.1016/j.biocon.2015.10.012. ISSN 00063207.
- ENSSLIN, A., A. VAN DE VYVER, T. VANDERBORGHT a S. GODEFROID.: *Ex situ cultivation entails high risk of seed dormancy loss on short-lived wild plant species. Journal of Applied Ecology* [online]. 2018, **55**(3), 1145 - 1154 [cit. 2020-06-08]. DOI: 10.1111/1365-2664.13057. ISSN 13652664.
- ESPELAND, Erin K., Nancy C. EMERY, Kristin L. MERCER, Scott A. WOOLBRIGHT, Karin M. KETTENRING, Paul GEPTS a Julie R. ETTERSON.: *Evolution of plant materials for ecological restoration: insights from the applied and basic literature. JOURNAL OF APPLIED ECOLOGY* [online]. 2017, **54**(1), 102-115 [cit. 2020-05-27]. DOI: 10.1111/1365-2664.12739. ISSN 00218901.
- FINCH-SAVAGE, W. E., & LEUBNER-METZGER, G.: *Seed Dormancy and the Control of Germination. The New Phytologist* [online]. 2006, **171**(3), 501-523 [cit. 2020-06-08]. ISSN 0028646X.
- FLEGR, J.: *Úvod do evoluční biologie. 2. Vydání, Praha: Academia, 2007.*
- GOLDING, J., SABINE G., HOLGER K., VICTOR Y. K., SUSANNA L., PARMANTIER I. a PAUTASSO M.: *Species-richness patterns of the living collections of the world's botanic gardens: a matter of socio-economics? Annals of Botany* [online]. 2010, **105**(5), 689-690 [cit. 2020-06-07]. DOI: 10.1093/aob/mcq043. ISSN 03057364.
- GRULICH, V. a CHOBOT, K., [eds] (2017): *Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Cévnaté rostliny. - Příroda, Praha, 35: 1-178.*

- GUERRANT, E. O., MAUNDER M., HAVENS, K.: *The Ecological and Evolutionary Context of Ex situ Plant Conservation*. 2004, part three, Pages: 229-230. GUERRANT, Edward O., Kayri HAVENS a Mike MAUNDER. *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival In The Wild*. 2004, **00003**. ISBN 9781559638753.
- HARČARIKOVÁ L. 2017: *Banka semen ohrožených druhů rostlin Krkonoš –klíčivost a hmotnost semen, část 3*. Opera Corcontica 54: 131–154. Dostupné z: [http://opera.krnep.cz/apex/f?p=103:12:1109588911303::NO::P12\\_ROCNIK\\_ID:54](http://opera.krnep.cz/apex/f?p=103:12:1109588911303::NO::P12_ROCNIK_ID:54)
- HAVENS, K., VITT, P., MAUNDER, M., O. GUERRANT E. JR. a DIXON, K.: *Ex Situ Plant Conservation and Beyond*. BioScience [online]. 2006, **56**(6), 525-531 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1641/0006-3568(2006)56[525:ESPCAB]2.0.CO;2. ISSN 00063568.
- HAWKINS, B. et al. *Plants and Climate Change: Which Future?*, Botanic Gardens Conservation International (2008)
- HEYWOOD, Vernon H. The role of botanic gardens as resource and introduction centres in the face of global change. *BIODIVERSITY AND CONSERVATION* [online]. 2011, **20**(2), 221-239 [cit. 2020-06-07]. DOI: 10.1007/s10531-010-9781-5. ISSN 09603115.
- HOBAN, Sean a Scott SCHLARBAUM.: *Optimal sampling of seeds from plant populations for ex-situ conservation of genetic biodiversity, considering realistic population structure*. Biological Conservation [online]. 2014, **177**, 90-99 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1016/j.biocon.2014.06.014. ISSN 00063207.
- HUSBAND, B.C., CAMPBELL, L.G., 2004. *Population responses to novel environments: implications for ex situ plant conservation*. In: Guerrant, E.O., Havens, K., Maunder, M. (Eds.), *Ex situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*. Island Press, Washington, pp. 231–285.
- KOČÁREK, E., PÁNEK, M., NOVOTNÁ, D.: *Klinická cytogenetika I: Úvod do klinické cytogenetiky, vyšetřovací metody v cytogenetice*. 1. Vydání, Praha, Karolinum, 2006, s.120. ISBN 80 -2461069-8

- LI, De-zhu a Hugh W. PRITCHARD.: *The science and economics of ex situ plant conservation*. Trends in Plant Science [online]. 2009, 14(11), 614-621 [cit. 2020-04-04]. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.09.005. ISSN 13601385.
- LIN, V. C. et al.: *In Vitro and in Vivo Melanogenesis Inhibition by Biochanin A from Trifolium pratense*. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 2011, Vol. 75, No 5, s. 914 – 918, ISSN: 0916-8451 (print), ISSN 347-6947 [online] dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1271/bbb.100878?needAccess=true>
- MASCHINSKI, Joyce.: *Center for Plant Conservation's Best Practice Guidelines for the reintroduction of rare plants*. Plant Diversity [online]. 2017, Vol. 39, No 6, s.390-395 [cit. 2020-06-10]. DOI: 10.1016/j.pld.2017.09.006. ISSN 24682659.
- MAUNDER, M., HAVENS K., GUERRANT O.E. Jr., and FALK, D. A.: *Ex Situ Methods: A Vital but Underused Set of Conservation Resources, The Evolution of Ex Situ Plant Conservation*. 2004, 1. Vydání, pp 7-13. GUERRANT, Edward O., Kayri HAVENS a Mike MAUNDER.: *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival In The Wild*. 2004, **00003**. ISBN 9781559638753.
- MAUNDER, M., HIGGENS, S. a CULHAM, A.: *The effectiveness of botanic garden collections in supporting plant conservation: a European case study*. Biodiversity [online]. 2001, **10**(3), 383-401 [cit. 2020-04-14]. DOI: 10.1023/a:1016666526878. ISSN 09603115.
- MEYER, R. S., DuVal, A. E., & JENSEN, H. R.: *Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops*. New Phytologist [online]. 2012, Vol.196, No 1,s. 29 [cit. 2020-06-08]. ISSN 0028646X.
- MÜLLER, J. V., BERG, CH., DÉTRAZ-MÉROZ, J. et al.: *The Alpine Seed Conservation and Research Network-a new initiative to conserve valuable plant species in the European Alps*. Journal of Mountain Science [online]. 2017, Vol.14, No4, pp. 806-810 [cit. 2020-04-12]. DOI: 10.1007/s11629-016-4313-8. ISSN 16726316.
- MURPHY, G E. P. a ROMANUK T. N.: *A meta-analysis of declines in local species richness from human disturbances*. ECOLOGY AND EVOLUTION [online]. 2014, Vol 4, No 1, pp. 91-103 [cit. 2020-06-06]. DOI: 10.1002/ece3.909. ISSN 20457758.



- MOUNCE, R., SMITH p. a BROCKINGTON S.: Ex situ conservation of plant diversity in the world's botanic gardens. *NATURE PLANTS* [online]. 2017, Vol 3, No 10, pp.795-802 [cit. 2020-06-07]. DOI: 10.1038/s41477-017-0019-3. ISSN 2055026X.
- MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ / Ministry of the Environment of the Czech Republic: *Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky / National Biodiversity Strategy of the Czech Republic*. Praha / Prague. 2005.S137. ISBN 80-7212-380-7.
- MINISTERSTVO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ: *Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky 2016 - 2025*. 2016, Praha, Sitcon Media s.r.o., 1. Vydání, s. 136,. ISBN 978 – 80- 7212 – 609 - .
- O'DONNELL, K. a SHARROCK, S.: *The contribution of botanic gardens to ex situ conservation through seed banking*. Plant Diversity [online]. 2017, Vol 39, No 6,pp. 373-378 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1016/j.pld.2017.11.005. ISSN 24682659.
- PÁNKOVÁ, H., MÜNZBERGOVÁ, Z., KŘÍŽ, K. *Záchranné pěstování ohrožených rostlin v soukromých zahradách*. Fórum ochrany přírody, ročník 2018, číslo 1, s.28-32 (2018)
- PRANCE, G. T., GUERRANT E. O., HAVENS K. a MAUNDER, M.: *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival In The Wild*. 2004, introduction, pp. 23-29. IF.00003. ISBN 9781559638753.
- RAVEN, P.H.. GUERRANT, E. O., HAVENS K. a MAUNDER, M.: *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival In The Wild*. 2004, foreword, pp. 13-15, IF 00003. ISBN 9781559638753.
- RELICHOVÁ, J.: *Genetika populací*. 2009, MUNI Press, Brno, s. 199. ISBN 978-80-210-4795-2.
- ROUDNÁ, M., DOTLAČIL, L. a kol.: *Genetické zdroje – význam, využívání a ochrana*. Praha: Ministerstvo životního prostředí, 2007. 28 s. Dostupné z: <[http://www.mzp.cz/www/webdav\\_biosafety.nsf/biosafety/pdf/Genetic%20Resources.pdf](http://www.mzp.cz/www/webdav_biosafety.nsf/biosafety/pdf/Genetic%20Resources.pdf)> . ISBN: 978- 80-7212-469-5.

- ŘEPKOVÁ, J.: *Genetika rostlin. Rezistence rostlin k abiotickým faktorům*. Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, [online 2013], dostupné z: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js13/genetika/web/pages/08-rezistence-k-abiotickym-faktorum.html> , dostupné jako prezentace v rozsahu 36 slides: <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js13/genetika/web/prezentace/07-rezistence-rostlin-k-abiotickym-faktorum.pdf>
- SARASAN, V., CRIPPS R., ATHERTON C., MCMICHEN M. a PRENDERGAST G.: *Conservation in vitro of Threatened Plants: Progress in the past Decade. In Vitro Cellular* [online]. 2006, Vol 42, No 3, p. 206 [cit. 2020-06-08]. DOI: 10.1079/IVP2006769. ISSN 10545476.
- SCHAAL B., LEVERICH W.J.: *Population Genetic Issues in Ex Situ Plant Conservation*. Pages 267-285. GUERRANT, Edward O., Kayri HAVENS a Mike MAUNDER. *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival In The Wild*. 2004, Chapter 13, IF 00003. ISBN 9781559638753.
- SHARROCK, S., OLDFIELD, S., WILSON, W.: *Plant Conservation Report 2014: a Review of Progress towards the Global Strategy for Plant Conservation 2011 -2020*, p. 32. CBD Technical Series, 2014, No.81, pp.56, ISBN (print version) 92-9225- 563-0, ISBN (web version) 92-9225-564-9 dostupná: <https://www.cbd.int/doc/publications/cbd-ts-81-en.pdf>
- SHARROCK, S., RIVERS, M.: *Red lists: Plant conservation assessments and the role of botanic gardens*. BGjournal, 2017, Vol 14, No 1, p.39 (z toho 24–26), dostupné: <https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2019/04/BGjournal%20141.pdf>
- SCHOEN, D. J., & BROWN, A. H. D.: *The Conservation of Wild Plant Species in Seed Banks: Attention to both taxonomic coverage and population biology will improve the role of seed banks as conservation tools*. BioScience [online]. 2001, Vol 51, No 11, s.960-966 [cit. 2020-06-08]. DOI: 10.1641/0006-3568(2001)051[0960:tcowps]2.0.co;2. ISSN 00063568.
- SMITH, P.: *Building a global system for the conservation of all plant diversity: a vision for botanic gardens and Botanic Gardens Conservation International*, .2016, Sibbaldia : The International Journal of Botanic Garden Horticulture, Guest essay, No 14, p. 5–13. DOI: <https://doi.org/10.23823/Sibbaldia/2016.208>

- SUKHDEV, P., WITTMER H. & Schröter-Schlaack, C.: *The Economics of Ecosystems and Biodiversity: Mainstreaming the Economics of Nature: A Synthesis of the Approach, Conclusions and Recommendations of TEEB* (Progress Press, Malta, 2010).
- ŠEDIVÁ, J. (2002): Klíčivost některých druhů koniklece (*Pulsatilla* L.) v in vitro podmínkách. – *Acta Průhoniana*, 73: 48–51.
- ŠEDIVÁ, J., ŽLEBČÍK, J.: *Shrnutí poznatků z pěstování a ex situ konzervace Pulsatilla vernalis* (L.) MILL., *P. pratensis* (L.) MILL. ssp. *bohémica* SKALICKÝ, *P. patens* (L.) MILL. a *P. grandis* WENDEROTH. – *Acta Průhoniana*, 100: 155–160, 2012.
- VEJSADOVÁ, H.: Ex situ kultivace ohroženého druhu *Platanthera bifolia* (L.) L.C. Richard. – *Acta Pruhoniana*, 2009, 93: 31–35.
- VENTER, O., SANDERSON E. W., MAGRACH A. et al.: *Sixteen years of change in the global terrestrial human footprint and implications for biodiversity conservation*. NATURE COMMUNICATIONS [online]. 2016, 7 [cit. 2020-06-06]. DOI: 10.1038/ncomms12558. ISSN 20411723.
- VOLIS, S.: *Conservation utility of botanic garden living collections: Setting a strategy and appropriate methodology*. Plant Diversity [online]. 2017, Vol 39, No 6, pp. 365-372 [cit. 2020-05-27]. DOI: 10.1016/j.pld.2017.11.006. ISSN 24682659.
- Web 1: IUCN 2020. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-1. . [online], [cit.9.04.2020]. Dostupné z: <https://www.iucnredlist.org>, <https://www.iucnredlist.org/resourees/summarystatistics#SummaryTables>
- Web 2: MANZI J & KURZ R. *Vermehrung von seltenen und gefährdeten Pflanzenarten*. [online], [online], [cit.4.5.2020]. Dostupné z: [https://aln.zh.ch/internet/baudirektion/aln/de/naturschutz/artenfoerderung/mitwirken/\\_jcr\\_content/contentPar/downloadlist/downloaditem/1542\\_1296648856630.spooler.download.1387468729326.pdf/Vermehrung\\_seltener\\_gefaehrdeten\\_Wildpflanzen\\_in\\_Privatgaerten.pdf](https://aln.zh.ch/internet/baudirektion/aln/de/naturschutz/artenfoerderung/mitwirken/_jcr_content/contentPar/downloadlist/downloaditem/1542_1296648856630.spooler.download.1387468729326.pdf/Vermehrung_seltener_gefaehrdeten_Wildpflanzen_in_Privatgaerten.pdf)
- Web 3: Ministerstvo životního prostředí: *Zoologické a botanické zahrady*. [online], [cit. 12. 5. 2020], Dostupné z: [https://www.mzp.cz/cz/botanicke\\_zoologicke\\_zahrady](https://www.mzp.cz/cz/botanicke_zoologicke_zahrady)

- Web 4: Cryopreservation in *pictures*. [online], [cit.16.5.2020] Dostupné z: <https://www.kew.org/read-and-watch/cryopreservation-in-pictures>
- Web 5: Botany.cz: *Botanické zahrady, jak je neznáte*. [online], [cit. 5.5.2020]. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/botanicke-zahrady-jak-je-neznate/>
- Web 6: Botany.cz: *Sbírka Třeboň*. [online], [cit.6.5.2020], Dostupné z: <https://botany.cz/cs/sbirka-trebon/>
- Web 7: *Strategie ochrany exsitu*, [online 2020], [cit. 18.05.2002]. Dostupné z: <https://nakladatelstvi.portal.cz/nakladatelstvi/aktuality/79764>
- Web 8: *Molekulární markery ve šlechtění rostlin*, [online], [cit. 1.03.2012]. Dostupné z: [http://isb-up.cz/data/PDF/MMSR/MMSR\\_LS\\_2012\\_1b.pdf](http://isb-up.cz/data/PDF/MMSR/MMSR_LS_2012_1b.pdf)
- Web 9: *Advantages and Disadvantages of In-Situ, Conservation*, [online], [cit. 6.5.2020]  
Dostupné z: <https://www.preservearticles.com/education/advantages-and-disadvantages-of-in-situ-conservation/20867>
- Web 10: *Genetika populací nenáhodné oplození inbreeding*. [online], [cit. 03.02.2015]. Dostupné z: <http://user.mendelu.cz/urban/vsg3/pop/popul6.html>
- Web 11: Masarykova univerzita: *Genetický drift*. [online], [cit. 28.4.2020]. Dostupné z: [https://is.muni.cz/el/1431/jaro2010/Z0005/18118868/index\\_book\\_2-5-2.html](https://is.muni.cz/el/1431/jaro2010/Z0005/18118868/index_book_2-5-2.html)
- Web 12: IUCN *Seed Conservation Specialist Group*. [online], [cit. 19.5.2020]. Dostupné z: <https://seedconservationsg.org/>
- Web 13: *Podpora záchranných projektů Zoo a BZ Plzeň*. [online], [cit. 6.6.2020]. Dostupné z: [https://www.zooplzen.cz/Files/zoo2/Ochranaprirody/TZ\\_PodporaZachrannychprojektuZooaBZPlzen\\_2019\\_Pesova.pdf](https://www.zooplzen.cz/Files/zoo2/Ochranaprirody/TZ_PodporaZachrannychprojektuZooaBZPlzen_2019_Pesova.pdf)
- Web 14: MSBP: *Seed Conservation Standards for 'MSB Partnership Collections*. [online], [cit. 4.15.2017]. Dostupné z: [http://www.kew.org/sites/default/files/MSBP%20Seed%20Conservation%20Standards\\_Final%2005-02-15.pdf](http://www.kew.org/sites/default/files/MSBP%20Seed%20Conservation%20Standards_Final%2005-02-15.pdf)

- Web 15: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.: *Výzkumný tým 09: Genová banka*. [online], [cit.06.05.2020]. Dostupné z: [https://www.vurv.cz/index.php?p=genova\\_bank&site=vyzkum](https://www.vurv.cz/index.php?p=genova_bank&site=vyzkum)
- Web 16: Krkonošský národní park (KRNAP): *Ochrana ex-situ*. [online 2020], [cit.06.05.2020]. Dostupné z: <https://www.krnep.cz/ochrana-ex-situ/>
- Web 17: Vlastivědné muzeum v Olomouci (VMO): *Banka semenných ohrožených druhů (BSOD)*. [online], [cit.06.05.2020]. Dostupné z: <https://www.vmo.cz/banka-semenn-ohrozenych-druhu-rostlin-bsod>
- Web 18: Unie botanických zahrad ČR: HUBÁČKOVÁ, D: „*Genofondové kultivace ohrožených druhů rostlin*.“ UP Olomouc, [online], [cit.3.5.2018], Dostupné z: <http://ubzcr.cz/wp/wp-content/uploads/2018/03/Vyhodnocení-dotazníku.pdf>
- Web 19: MŽP a AOPK ČR. *Koncepce záchranných programů a programů péče zvláště chráněných druhů živočichů a rostlin v České republice*, 2014. Dostupné z: [https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/zachranne\\_programy/\\$FILE/ODOIMZ\\_koncepce\\_20170905.pdf](https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/zachranne_programy/$FILE/ODOIMZ_koncepce_20170905.pdf)
- WYSE JACKSON, P.S. & SUTHERLAND, L.A.: *International Agenda for Botanic Gardens in Conservation*. 2000, Botanic Gardens Conservation International, Richmond, UK, p5 6. ISBN 0-9520275-93
- WYSE, J. P.S.: *Development and adoption of the Global Strategy for Plant Conservation: an NGO's perspective*, Bot. Gard. Conserv. News, 2002, Vol. 3, No 8, pp. 25-32. ISSN 09652582
- WYSE JACKSON, Peter a Kathryn KENNEDY.: *The Global Strategy for Plant Conservation: a challenge and opportunity for the international community. TRENDS IN PLANT SCIENCE* [online]. 2009, Vol 14, No 11, s. 578-580 [cit. 2020-06-08]. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.08.011. ISSN 13601385.
- WYSE, S. V. a DICKIE, J.B.: *Predicting the global incidence of seed desiccation sensitivity*. JOURNAL OF ECOLOGY [online]. 2017, Vol 105, No 4, pp.1082-1093 [cit. 2020-06-07]. DOI: 10.1111/1365-2745.12725. ISSN 00220477.

ZAHRADNÍKOVÁ, J., HARČARIKOVÁ L.: *Banka semen ohrožených druhů rostlin Krkonoš.*  
Opera Corcontica, 2010, číslo 47, s. 211–230. ISSN 0139-925X